

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

LE PROBLÈME DE L'AUTOLYSE MICROBIENNE TRANSMISSIBLE OU DU BACTÉRIOPHAGE

Par le D^r J. BORDET

(Institut Pasteur de Bruxelles).

Le phénomène de lyse bactérienne sous l'influence de l'agent qu'on appelle communément bactériophage, et qui possède ce surprenant caractère d'être reproductible au cours des passages à travers les cultures successives, ne pouvait manquer d'éveiller l'attention des chercheurs et de susciter diverses tentatives d'explication dont aucune, à vrai dire, ne s'est encore définitivement imposée. Ceux qui poursuivent la solution du problème ont conscience de sa complexité ; ceux qui lisent les travaux parus généralement sous forme de brèves notes fragmentaires, qu'il n'est pas toujours aisé de bien coordonner, restent perplexes devant les théories discordantes qu'on propose, ont peine à se faire une opinion ; sans doute souhaitent-ils que la question soit reprise dans son ensemble et fasse l'objet d'un exposé critique.

Après Twort, d'Hérelle, Kabeshima, j'ai abordé avec Ciuca, en 1920, l'étude du bactériophage, et publié une série de communications sur lesquelles je voudrais revenir aujourd'hui

en y ajoutant les résultats de mes recherches plus récentes, le but que je poursuis étant de confronter les diverses interprétations et d'apprécier, autant que faire se peut, leur degré de vraisemblance.

§ 1. HISTORIQUE, NOTIONS ESSENTIELLES, TECHNIQUES PRINCIPALES ET HYPOTHÈSES PROPOSÉES.

C'est Twort qui, en 1915, découvrit le phénomène en signalant les trois caractéristiques essentielles de la lyse, à savoir qu'elle n'affecte que les microbes vivants, qu'elle est indéfiniment transmissible et que l'agent lytique se retrouve dans les lysats débarrassés des bactéries par filtration sur bougie Berkefeld ou Chamberland. Au surplus, les travaux ultérieurs, ceux de Gratia notamment, ont établi que le bactériophage staphylococcique, considéré tout d'abord par Twort, offre la plus complète analogie avec ceux que d'Hérelle a soigneusement étudiés, et qui s'attaquent à d'autres microbes, tels que les bacilles dysentérique, coli, typhique. Ayant ensemencé sur gélose du vaccin jennérien glyciné, Twort constata que certaines colonies de microcoques, d'abord normales, changeaient bientôt d'aspect, devenaient transparentes et vitreuses, et qu'alors le microscope n'y décelait plus que des débris microbiens. Une trace de cette matière microbienne lysée, déposée sur une colonie encore intacte, y propageait une lyse identique. Le filtrat des microcoques lysés provoquait la même altération ; étalé sur gélose, il rendait ce milieu nutritif impropre au développement. Les colonies jeunes en pleine croissance se montraient très réceptives, tandis que les cultures tuées ne se laissaient pas modifier. En outre, Twort observa des faits analogues concernant des bacilles du groupe coli-typhique. Sans se prononcer nettement quant à l'interprétation de ce curieux phénomène, il esquissait déjà les diverses hypothèses qui furent ultérieurement défendues.

En 1917, d'Hérelle (1) eut le mérite d'apporter un exemple particulièrement frappant, celui du bacille dysentérique, d'étendre la notion du bactériophage à d'autres microbes encore

(1) *C. R. Acad. des Sciences*, 165, p. 373, 10 sept. 1917 et *C. R. Soc. Biol.*, 81, p. 1160, 7 déc. 1918.

et de recueillir une série de données importantes relatives notamment à l'évaluation de la puissance lytique par la numération des taches de clarification sur gélose, à l'exaltation de cette puissance par passages de l'agent lytique en série dans des suspensions microbiennes successives, au fait que, dans des suspensions de bactéries réceptives, quelques individus microbiens peuvent se montrer réfractaires à la lyse et engendrer une culture résistante. Comme Twort, d'Hérelle et Bablet (1) reconnurent que le principe ne peut se reproduire qu'aux dépens de microbes vivants; il reste inerte en présence de microbes tués par la chaleur ou les antiseptiques; il ne se développe pas davantage dans le bouillon stérile.

C'est dans les matières fécales de convalescents de dysenterie que d'Hérelle constata la présence de l'agent lytique. En filtrant ces matières additionnées de bouillon, on obtient fréquemment un liquide capable de clarifier une suspension de bacille Shiga. Une trace de cette première suspension lysée, ajoutée à une nouvelle suspension du même microbe, en provoque semblablement la lyse, et ainsi de suite indéfiniment. Au surplus cette expérience de transmission et de reproduction de l'activité lytique donne le même résultat si on a soin de filtrer chaque suspension lysée avant de l'introduire dans la suspension suivante.

D'autre part, si l'on étale sur gélose nutritive une goutte de suspension de bacille Shiga que l'on vient d'additionner d'une trace de filtrat lytique, on obtient une culture parsemée de taches claires, arrondies. Ces zones de lyse intense sont d'autant plus nombreuses que la quantité de filtrat ajoutée à la suspension était plus considérable. Si la dose a été suffisante, la surface de la gélose reste nue ou ne montre que quelques colonies de microbes résistants dont le développement est plus ou moins lent et pénible.

Habituellement, les passages en série dans des suspensions successives, loin d'amoinrir l'énergie de l'agent lytique, l'augmentent. Cet accroissement d'activité n'est cependant pas indéfini et les passages n'ont pas nécessairement pour effet d'uniformiser tous les principes, capables d'impressionner un même microbe, que l'on peut se procurer. Ceux-ci peuvent

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 83, p. 1322, 23 oct. 1920.

avoir leur individualité en ce sens qu'ils ne clarifient pas les suspensions d'une façon également prompte et complète; ils ne possèdent pas tous, comme dit d'Hérelle, la même virulence, et souvent ces caractères propres se maintiennent.

La spécificité des principes est loin d'être absolue; tel principe obtenu par filtration des matières d'un convalescent dysentérique lyse non seulement le bacille Shiga, mais aussi les bacilles coli, typhique, etc., et conserve l'aptitude à lyser ces espèces, même après avoir été, pendant un temps très prolongé, entretenu par passages uniquement sur des suspensions de bacille Shiga (d'Hérelle). Il s'agit à vrai dire, dans cet exemple, d'espèces microbiennes assez étroitement apparentées. Semblablement, Bordet et Ciucă ont vu qu'un principe actif sur le Bacille coli lyse également le bacille Flexner, certains bacilles typhiques, les bacilles paratyphiques A et B. Mais Gratia a constaté qu'un principe lysant le staphylocoque n'impressionnait pas les bacilles Shiga, coli, typhique, et qu'un principe lysant le Bacille coli ne produisait aucun effet sur le staphylocoque; il s'agit ici de microbes très différents. Quoi qu'il en soit, le fait que les selles de convalescents dysentériques fournissent souvent l'agent lytique actif sur le bacille Shiga, ne doit pas forcément suggérer l'idée que la présence de ce bacille dans le tube digestif était indispensable à l'apparition du principe; peut-être s'agit-il simplement d'appropriation, au bacille Shiga, d'un principe préexistant, et qui impressionnait des microbes normaux de l'intestin. Au surplus, Dumas (1) a trouvé parfois l'agent lytique dans les selles de personnes indemnes d'affections intestinales. Il en a démontré également l'existence dans l'eau et dans la terre; un bouillon ensemencé de terre ou d'eau, maintenu quelque temps à l'étuve, puis filtré, fournit parfois un liquide capable de lyser le bacille Shiga. Remarquons-le, ce résultat ne signifie pas forcément que l'agent lytique se rencontre, indépendamment des microbes, disséminé à l'état libre dans le sol ou dans l'eau. Sans doute indique-t-il qu'il y a dans le sol ou dans l'eau des bactéries lysogènes, c'est-à-dire capables d'engendrer l'agent lytique dans les milieux de culture.

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 1920, 83, p. 1314.

Le principe lytique agit souvent à dose extraordinairement minime. Pour évaluer sa concentration dans un liquide déterminé, lequel est généralement un filtrat de suspension lysée, on a naturellement recours à la technique qui consiste à éprouver l'action, sur les microbes réceptifs, de dilutions de plus en plus étendues. Par exemple, on dispose de 5 à 6 tubes contenant 5 cent. cubes de bouillon stérile, on introduit dans le premier tube une goutte du liquide étudié, on agite, on transporte de ce premier bouillon une goutte dans le second tube, puis une goutte du second dans le troisième, etc.; on introduit alors des microbes dans tous les tubes et l'on observe la lyse. On constate fréquemment que celle-ci apparaît dans les quatre premiers tubes, et que les microbes poussent normalement dans le cinquième; en pareil cas (en comptant 20 gouttes par centimètre cube), le principe agit donc encore en dilution de 10^{-8} , soit à dose de 0,00000005 cent. cube. Remarquons que cette technique permet de démontrer la multiplication de l'agent lytique. Préparons en double le quatrième tube, additionnons l'un d'eux de microbes sensibles, maintenons à l'étuve le temps voulu. Si le principe s'est reproduit dans le tube contenant les microbes, une goutte ou une fraction de goutte de ce liquide lysera une nouvelle suspension, tandis qu'une goutte du quatrième bouillon non additionné de microbes ne produit pas cet effet. L'expérience démontre d'ailleurs que le principe ne se multiplie pas dans le bouillon stérile. La reproduction ne s'observe pas davantage si le quatrième tube reçoit, au lieu de microbes vivants, des microbes tués.

On peut aussi, comme je viens de le rappeler, ensemençer sur toute la surface d'une gélose, selon la technique de d'Hérelle, une suspension microbienne qu'on vient d'additionner d'une certaine quantité de liquide lytique; le nombre de taches claires donne une idée de la concentration du principe. J'emploie fréquemment la technique dite des traînées. Dans un tube de gélose qui a séjourné une nuit à l'étuve (afin qu'il ne s'y produise plus d'exsudation de bouillon), on introduit une mince baguette de verre au bout de laquelle pend une goutte de culture; on étale celle-ci sur toute la surface et l'on remet à l'étuve pendant une demi-heure en position verticale. On introduit ensuite, de la même façon, une gouttelette du liquide

à éprouver, dont on touche le centre de la gélose et que l'on guide au bout de la baguette jusqu'au fond du tube ; on replace ensuite à l'étuve. Il se produit ainsi une traînée médiane de lyse, continue si le principe est concentré, formée d'une rangée de taches distinctes si le principe a été suffisamment dilué. Ce procédé permet notamment de comparer la partie normale de la culture, située en dehors de la traînée, à celle qui, sur le trajet de celle-ci, a subi l'influence du principe.

Le principe est très résistant à la conservation (d'Hérelle) ; après plusieurs années, le filtrat d'émulsion lysée est encore actif. Il semble bien certain toutefois que la concentration de l'agent lytique finit par y diminuer sensiblement, car au bout d'un temps prolongé l'épreuve par la technique des traînées donne des taches moins nombreuses, mais qui, à vrai dire, n'ont rien perdu en netteté. D'Hérelle a émis l'opinion que l'agent lytique est centrifugeable dans une certaine mesure. Je n'ai jamais pu confirmer cette donnée. J'ai observé assez souvent qu'au bout d'un ou deux mois un trouble net apparaissait dans les lysats filtrés, d'abord parfaitement limpides ; ce précipité offrait au microscope l'aspect d'un agglutinat de débris microbiens, et l'on pouvait supposer qu'à la faveur d'une centrifugation très énergique un tel floculat entraînerait l'agent lytique dans sa propre sédimentation. Mais cette hypothèse ne s'est pas vérifiée : le principe ne s'est pas trouvé en plus grande abondance dans le dépôt que dans le liquide surnageant parfaitement clarifié.

La résistance du principe au chauffage est suffisante pour que l'on puisse, tout en le respectant, stériliser une suspension lysée. Mais il est prudent de ne pas dépasser de beaucoup la température à laquelle la bactérie est tuée, l'agent lytique lui-même étant détruit vers 70°. On chauffe une demi-heure à 56°5 s'il s'agit du bacille Shiga, à 57°5-58° s'il s'agit du Bacille coli. Certains principes sont plus thermolabiles, notamment celui qui agit sur le staphylocoque et qui est atteint déjà vers 60° (Twort, Gratia). La résistance au chauffage n'est d'ailleurs pas absolument constante pour un principe déterminé ; elle peut varier sensiblement au fur et à mesure que le principe se renouvelle grâce aux passages ; par exemple, Gratia a étudié un principe actif sur le staphylocoque et qui, d'abord détruit vers

60°, devenait moins vulnérable après quelques passages sur des suspensions de ce microbe. D'autre part, j'ai nettement observé qu'après une conservation prolongée, un filtrat lytique (actif sur le *Bacille coli*) peut ne plus se comporter exactement de même vis-à-vis de la chaleur. Porté à la température de 58°, il donne, par la méthode des traînées, des taches claires aussi apparentes que si on l'avait semblablement chauffé sans l'avoir laissé vieillir. Mais ces taches sont beaucoup moins nombreuses. Il semble que l'agent lytique, lorsqu'il se trouve dans un filtrat ancien, s'agrége plus aisément sous l'action du chauffage, de sorte que sa concentration paraît baisser sans toutefois que qualitativement sa puissance diminue; sans doute la chaleur exerce-t-elle sur le principe une certaine influence condensatrice ou coagulante à laquelle il devient peu à peu plus sensible. Au surplus, on trouve parfois que des filtrats récemment préparés sont déjà influencés dans une certaine mesure par le chauffage; et ils le sont de la même façon, c'est-à-dire qu'ils donnent des taches aussi nettes, mais notablement moins nombreuses. On conçoit ainsi que les indications des auteurs qui ont voulu déterminer la température de destruction du principe ne concordent pas toujours exactement.

Kabeshima a signalé le premier la remarquable résistance de l'agent lytique à des influences nettement antiseptiques, telles la précipitation par 3 volumes d'acétone (l'agent se retrouve dans le précipité), l'addition de toluène ou de chloroforme. Non seulement il garde intact son pouvoir lytique lorsqu'on le met pendant une semaine dans un tube scellé en contact avec un excès de chloroforme, mais il ne perd aucunement, dans ces conditions, ainsi que j'ai pu le constater avec Ciuca (1), l'aptitude à se reproduire lorsqu'on en introduit une trace dans un tube de bouillon qu'on vient d'ensemencer du microbe réceptif.

D'Hérelle a reconnu que si l'on ensemence sur gélose une suspension microbienne additionnée de principe lytique, on obtient souvent des cultures résistantes. Opérant sur le *Bacille coli*, j'ai montré avec Ciuca qu'elles pouvaient offrir des caractères très particuliers. Repiquées sur gélose, les émulsions

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 85, 1921, p. 1095.

lysées de *Bacille coli* donnent souvent des cultures filantes, muqueuses; les microbes semblent enrobés dans un épais mucilage, et ce caractère se maintient dans les repiquages successifs; ces cultures faites en série, par repiquage en masse sur gélose ou en bouillon, perpétuent d'ailleurs l'agent lytique.

Lorsqu'on l'introduit dans du bouillonensemencé d'une bactérie réceptive, le principe agit sur les microbes tout en se régénérant; on comprend qu'il s'approprie plus étroitement ainsi à l'espèce considérée. Cette adaptation se confirme si, après séjour à l'étuve, on transporte un peu de ce premier liquide dans un second bouillonensemencé de même. Toutefois, si des germes résistants se sont développés, ils se multiplieront dans celui-ci au point de le troubler, le phénomène lytique pouvant ainsi être masqué. Pour éviter cet inconvénient, il convient donc de filtrer le liquide ou de le chauffer vers 58° avant de réaliser le passage, c'est-à-dire avant de le faire agir de nouveau sur les bactéries normales. Remarquons néanmoins que cette technique qui, à chaque transport, élimine les germes résistants, peut, du moins dans certains cas, avoir d'autre part pour effet de faire disparaître certaines bactéries plus réceptives qui, impressionnées par le principe sans être parvenues encore au terme de l'évolution qu'il leur imprime, auraient pu poursuivre celle-ci si on les avait transplantées dans un nouveau milieu nutritif, et, de la sorte, auraient finalement contribué à la régénération de ce principe. On conçoit ainsi que, dans certaines conditions, notamment dans le cas de principes faibles n'agissant que lentement sur les microbes, la reproduction de l'agent lytique s'effectue mieux si les bactéries qui ont subi son influence ne sont pas éliminées avant chaque passage; je reviendrai sur ce point.

Telles sont, brièvement récapitulées, les notions essentielles qu'il fallait tenter d'interpréter.

Pour d'Hérelle, l'agent lytique est un virus invisible, parasitant les bactéries, à l'intérieur desquelles il se multiplie et qu'il dissout. Il est si adapté à ce genre d'existence qu'il ne peut se reproduire en l'absence des bactéries; il exige même qu'elles soient vivantes. La conviction de d'Hérelle se fonde essentiellement sur le fait, fort important d'ailleurs, qu'il existe une

proportionnalité remarquable entre la concentration de l'agent lytique et le nombre des zones de lyse, c'est-à-dire des taches claires, qu'il fait apparaître sur des géloses ensemencées. C'est ce que montre l'expérience très simple déjà rappelée, qui consiste à introduire dans des tubes contenant tous la même suspension (de bacille Shiga par exemple) des doses différentes de principe, un peu de ces divers mélanges étant, immédiatement après, étalé sur la surface de géloses nutritives. Si le principe est peu abondant, la gélose ne se constelle que de rares taches claires, d'ailleurs aussi nettes et tranchées que celles plus nombreuses qu'on obtient en ensemençant une suspension contenant davantage de principe. D'après d'Hérelle, ce fait démontre que l'agent lytique est de nature corpusculaire : il s'agit de particules vivantes que l'ensemencement dissémine sur la gélose, en des points qui bientôt deviennent des centres de lyse ; chaque élément parasite dévore les bactéries voisines en voie de multiplication, les taches claires qui apparaissent de la sorte représentant ainsi de véritables colonies du virus invisible. Je signalerai plus loin une interprétation très différente. Je pense que l'hypothèse de d'Hérelle est erronée, mais je reconnais qu'il est difficile de la réfuter formellement. Prouver que le virus est illusoire est malaisé, d'abord parce que, en thèse générale, il est toujours plus ardu de démontrer l'inexistence d'une chose que sa réalité, ensuite parce que l'hypothèse du virus bénéficie du fait que la lyse exige indubitablement le concours de la vie. La question est de savoir si ce phénomène résulte de l'activité vitale de la bactérie elle-même qui se lyse, ou s'il dépend de l'intervention d'un virus étranger parasite.

C'est Kabeshima qui, le premier, s'est pris à douter de la réalité du virus de d'Hérelle. Il se fondait surtout sur la singulière résistance de l'agent lytique à la conservation très prolongée et à l'influence d'antiseptiques tels l'acétone et le chloroforme. Il supposa que la lyse était due à l'intervention d'une sorte de catalyseur produit par les glandes digestives, peut-être par les leucocytes, et qui activerait, en lui communiquant le pouvoir lytique, une prodiastase normalement inerte, contenue dans le corps de la bactérie. Mais une telle hypothèse n'est vraiment pas compatible avec le caractère essentiel du phénomène, qui est la

transmissibilité indéfinie. Il n'est pas possible de comprendre comment un principe, fabriqué par les glandes de l'intestin ou les leucocytes, pourrait se maintenir avec toute son activité première, malgré la dilution bientôt énorme que réalise, à chaque passage, le transport d'une trace de filtrat de suspension lysée dans une nouvelle suspension bactérienne.

Peu après le travail de Kabeshima, nous suggérâmes (1) l'idée que la bactériophagie était en réalité une autolyse, une autophagie résultant, chez la bactérie, d'une rupture, ou plutôt d'un déplacement de l'équilibre entre ces deux phénomènes contraires : l'assimilation qui crée de nouvelle matière vivante et le métabolisme qui dégrade celle-ci. Selon cette hypothèse, le principe lytique, au lieu d'être un virus comme le veut d'Hérelle, ou de dériver au moins en partie de l'activité des glandes digestives comme l'admet Kabeshima, serait produit exclusivement par la bactérie elle-même. Il tirerait son origine d'une propriété bactérienne normale, physiologique, mais qui, dans certaines conditions ou à l'intervention de certains individus microbiens, serait susceptible de se manifester d'une façon excessive et morbide. Il communiquerait aux bactéries normales, lorsqu'elles sont suffisamment réceptives, une tendance exagérée à l'autolyse, et se régénérerait du fait même qu'il agit. Peut-être le principe lytique n'est-il pas à proprement parler, directement lytique, il pourrait être excitateur d'autolyse, déclencheur d'autophagie. D'autre part, dans la culture lysable soumise à son action, se rencontrent des individus microbiens diversement réceptifs; un phénomène d'adaptation ou de sélection se produit, grâce auquel certains d'entre eux, ou bien se montrent désormais insensibles au principe lytique et ne le reproduisent pas (tout au moins sous une forme décelable), ou bien le régénèrent, soit en manifestant eux-mêmes d'une façon plus ou moins prononcée le phénomène lytique, soit en ne paraissant aucunement ressentir ses effets délétères et en fournissant donc des cultures luxuriantes. Chez de telles bactéries lysogènes et résistantes, qui tolèrent parfaitement le principe qu'elles engendrent et poussent avec vigueur sans rien présenter d'anormal, il faut bien accepter qu'un nouvel équilibre

(1) BORDET et CIUCAI, *C. R. Soc. Biol.*, 83, 16 octobre 1920, p. 1293 et 1296.

s'est établi entre l'aptitude à créer de nouvelle matière vivante et la tendance à l'autodestruction ; elles se sont en quelque sorte harmonisées au principe qu'elles élaborent, et vis-à-vis duquel leurs congénères, qui n'ont pas réalisé cette stabilisation, se montrent susceptibles. Au surplus, les cultures qui ont fait preuve d'une semblable accommodation peuvent s'être modifiées également à d'autres points de vue, et c'est ainsi que le principe lytique peut concourir à l'avènement de types microbiens particuliers (1) et, dans la suite, assurer le maintien ou même la prédominance de telles variétés. Le caractère essentiel qu'il possède d'être reproductible garantit en effet la permanence de son action à travers les générations microbiennes successives.

En thèse générale, on peut même penser que la stabilité des caractères qui définissent les espèces vivantes ou les variétés est sauvegardée précisément du fait que, au cours des divisions cellulaires répétées, les principes chimiques qui commandent ces caractères sont incessamment reproduits et se trouvent ainsi, malgré les proliférations, en quantité toujours suffisante pour empêcher que la descendance s'écarte du type spécifique. Je ne reviens pas sur ces considérations théoriques auxquelles nous avons cru pouvoir nous livrer dans nos premières notes, le présent article se limitant exclusivement à la question de la lyse transmissible.

En résumé, la bactériophagie est, à nos yeux, une autolyse, une exagération transmissible de phénomènes autolytiques qui, remarquons-le, se manifestent déjà avec une intensité variable mais généralement modérée chez les bactéries normales. Chacun le sait, dès qu'une culture vieillit, beaucoup d'individus microbiens cessent d'être colorables, ils semblent se vider, se résolvent en débris ; certaines espèces montrent très rapidement de telles modifications régressives. Parfois, comme l'a montré Jaumain (2), l'autolyse est plus active dans les cultures soustraites au contact de l'air. Certes, dans la plupart de ces cas banaux d'autophagie, on ne parvient pas à démontrer que le phénomène soit transmissible ; c'est-à-dire que les produits d'une première lyse soient capables d'activer visiblement l'au-

(1) J'ai insisté notamment sur ce point dans un article paru dans *British med. Journ.*, 3 février 1923, et j'y reviens dans la suite du présent article.

(2) *C. R. Soc. de Biologie*, 87, 1922, p. 790.

tolyse de microbes de même espèce. A vrai dire, si, comme nous le pensons, la faculté d'élaborer des principes susceptibles de déclencher à un moment donné leur lyse existe déjà chez les microbes normaux, c'est-à-dire représente chez eux une fonction physiologique, il n'y a guère de raison pour que cette lyse s'accomplisse mieux lorsqu'on porte ces microbes au contact de principes de même nature provenant d'une lyse antérieurement subie par des microbes identiques. *A priori*, il semble que le caractère de transmissibilité ne peut apparaître nettement que si le principe étudié jouit d'une activité inusitée, anormale, ou bien encore si on le fait agir, non pas sur des microbes parfaitement identiques à ceux qui l'ont fourni, mais sur une bactérie plus impressionnable, plus apte par conséquent à déceler sa présence en se comportant à son égard comme un révélateur. L'étude du phénomène que nous considérons ici nous permettra d'observer de pareilles conditions.

Etant donné que, selon notre hypothèse, le principe lytique présidant à la destruction des bactéries est reproduit par celles-ci, il serait désirable, pour mieux comprendre la possibilité d'un tel fait, de pouvoir recourir à des comparaisons. Il en est une qui se présente assez naturellement à l'esprit. J'ai montré autrefois avec Gengou qu'outre sa propriété directement coagulante, la thrombine accélère considérablement, au sein du plasma, la production de nouvelle thrombine aux dépens des matériaux que ce liquide contient. Un plasma suffisamment stable, c'est-à-dire qui, livré à lui-même, n'aurait fourni de la thrombine qu'au bout d'un temps fort prolongé, en développe très promptement une quantité considérable si on l'additionne de sérum contenant un peu de ce même principe actif. Un fait analogue et très curieux a été signalé par Delezenne et Ledebt à propos de l'activation du ferment protéolytique du suc pancréatique. Je me hâte d'ajouter que de tels rapprochements n'apportent d'autre clarté que de rendre plus aisément concevable la notion qu'un principe puisse être régénéré par les bactéries mêmes sur lesquelles il agit.

S'il importe d'expliquer comment le principe, une fois produit, se perpétue, il est plus essentiel encore de rendre compte de son apparition. Qu'une culture d'abord normale manifeste à un moment donné le processus lytique, rien de plus aisé à

comprendre selon la théorie de d'Hérelle : il suffit de dire que la culture s'est infectée du virus invisible. Mais si la lyse est en réalité une autolyse, quel est donc le facteur qui initialement la déclenche ? Ceci m'amène à rappeler comment nous avons été conduit à formuler notre hypothèse. La singulière résistance, notée par Kabeshima, dont le principe témoigne vis-à-vis des antiseptiques, et, d'autre part, le fait qu'injecté dans la veine, il peut se maintenir longtemps dans le sang des animaux et même apparaît dans la circulation lorsqu'il est introduit sous la peau, nous semblaient peu conciliables avec la théorie du virus. Chez le lapin, nous avons retrouvé le principe dans le sang quarante heures après l'inoculation intraveineuse. D'habitude, le sang se débarrasse aisément des germes qui ne sont pas nocifs pour l'animal ; or, le parasite invisible de d'Hérelle n'est virulent que pour les bactéries. De plus, nous avons obtenu huit fois, sur un total de douze essais, un résultat positif en éprouvant, au point de vue du pouvoir lysogène, l'exsudat leucocytaire qui se forme dans le péritoine du cobaye lorsqu'on y injecte du *Bacille coli* : fréquemment donc, l'exsudat déclenchait la lyse en série de cultures normales de ce microbe. Ce résultat serait décisif s'il s'observait avec plus de constance. Mais il est très capricieux et, dans la suite, j'ai consigné de nombreux échecs, sans réussir à élucider la cause de ces discordances. Dans un essai de ce genre réalisé avec M. Jaumain, il est arrivé ce fait singulier que le même exsudat ayant été réparti en deux tubes, l'un de ceux-ci donna lieu à la lyse transmissible, l'autre portion ne provoquant rien de tel. Comment, dans le cadre de l'hypothèse autolytique, concevoir le motif de pareilles irrégularités ?

En thèse générale, il n'est pas au pouvoir de l'expérimentation de conférer à un être vivant une propriété réellement nouvelle ; mais parfois elle réussit à affaiblir ou à exalter des qualités préexistantes. Si vraiment la lyse n'est pas attribuable à un parasite invisible, si, en réalité elle est une autolyse, elle ne peut résulter que de l'exaltation pathologique d'une propriété normale, et, dans ces conditions, on doit se demander si, lorsqu'on injecte du *B. coli* dans le péritoine d'un cobaye, où bientôt les leucocytes affluent, une sélection ne s'opère pas parmi les innombrables individus microbiens inoculés, ayant

pour conséquence la survivance et la prolifération ultérieure de certains germes capables d'acquérir des aptitudes lysogènes spécialement prononcées, et dont les produits pourraient ainsi déclencher le processus dans la culture normale où l'exsudat est introduit. L'irrégularité des résultats serait due à ce que ces microbes sont rares ou parfois même font défaut.

Il est évidemment très facile d'admettre, comme le fait d'Hérelle, que les résultats positifs sont dus à l'invasion de la cavité péritonéale par le virus invisible qui préexiste dans le tube digestif du cobaye en expérience; je reconnais que la supposition d'une diffusion de l'agent lytique dans le péritoine ne serait pas invraisemblable si cet agent était une substance au lieu d'être un virus; cependant, nous avons signalé que nous n'avons pas décelé le principe dans les déjections des animaux dont l'exsudat se montrait lysogène. Au surplus, Lisbonne, Boulet et Carrère (1) ont pu, dans la suite, déclencher la lyse du *b. Shiga* en faisant agir *in vitro*, sur ce microbe, des exsudats leucocytaires provoqués chez le chien par injection sous la peau d'essence de térébenthine. Si l'agent lytique était un principe chimique présent dans l'intestin, peut-être pourrait-il se répandre dans l'organisme et parvenir jusqu'à l'exsudat sous-cutané, de sorte que l'effet observé ne serait pas dû aux leucocytes eux-mêmes. Mais on ne peut guère imaginer que si cet agent est un virus, une telle diffusion puisse s'effectuer chez l'animal vivant. En tout état de cause, les expériences ci-dessus rappelées sont nettement défavorables à la théorie du virus.

Enfin, nous avons reconnu (2) qu'on obtient aisément un sérum antilytique en injectant à plusieurs reprises au lapin un filtrat de suspension lysée, et cette donnée a été confirmée par de nombreux auteurs, notamment d'Hérelle et Eliava (3). Or, il ne s'agit pas, selon toute vraisemblance, d'une influence virulicide, car le sérum neutralise encore le principe après avoir été chauffé vers 60°, température qui, comme on sait, détruit le pouvoir bactéricide spécifique des immun-sérums. Ce fait semble donc indiquer que l'agent lytique est une substance et non un être vivant. A vrai dire, d'Hérelle a affirmé que le pou-

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 1922, p. 340.

(2) *C. R. Soc. Biol.*, 84, 1921, p. 280.

(3) *C. R. Soc. Biol.*, 84, 1921, p. 749.

voir neutralisant du sérum ne faisait pas disparaître définitivement l'agent lytique, mais il est visible que cet auteur mettait en jeu des doses de sérum insuffisantes. En pareil cas, le principe peut n'être que partiellement neutralisé, c'est-à-dire simplement affaibli, et c'est ce que les expériences de Seiffert semblent bien démontrer (1).

D'autre part, il a été reconnu que les sérums antilytiques agissent d'une façon nettement spécifique. Gratia et Jaumain ont constaté qu'un sérum d'animal immunisé contre le principe lytique actif sur le staphylocoque ne neutralise pas le principe actif sur le *B. coli*, la réciproque se vérifiant également. Bien plus, un seul et même liquide lytique, actif par exemple vis-à-vis du *B. coli*, peut renfermer des principes quelque peu distincts et qui ne sont pas justiciables au même degré d'un même immun-sérum. On s'explique aisément, dans ces conditions, que le liquide lytique puisse parfois manifester encore une certaine activité malgré l'addition d'immun-sérum.

Telles étant les hypothèses proposées, il convient de rechercher comment elles s'accroissent des constatations qu'une analyse plus pénétrante permet ultérieurement de recueillir.

§ 2. CONDITIONS DE DÉVELOPPEMENT DE L'AGENT LYTIQUE DANS LES MILIEUX LIQUIDES.

PHASE DE MULTIPLICATION ET STADE CRITIQUE DE LYSE; NÉCESSITÉ DE L'ALIMENTATION. — Commençons par le cas le plus simple et qui fut étudié le premier : celui d'un principe très actif et d'un microbe bien sensible; tel le *b. Shiga* ou certains *B. coli*. Si, dans un tube de bouillon qu'on vient d'ensemencer d'une goutte de culture, on introduit une forte dose (une goutte par exemple)

(1) *Zeitschr. f. Immunitätsforschung*, 38, p. 292.

D'après Seiffert, l'addition au principe d'une dose relativement faible de sérum antilytique a pour effet non pas d'abaisser le nombre des taches que ce principe est capable de faire apparaître sur gélose ensemencée, mais de diminuer beaucoup les dimensions de ces taches. Il semble donc qu'une dose minime de sérum agit plutôt qualitativement que quantitativement, en ce sens qu'au lieu de neutraliser complètement une portion du principe sans en modifier l'excédent, elle l'impressionne dans sa totalité en lui imprimant une atténuation légère, comme l'exige au surplus la théorie que j'ai développée autrefois concernant la neutralisation des toxines par les antitoxines. Au fur et à mesure qu'on élève la dose de sérum, les taches deviennent de plus en plus petites et finalement ne sont plus perceptibles.

de principe, on constate fréquemment que le liquide reste transparent longtemps, parfois même plusieurs jours, tandis que du bouillon sans principe, ensemencé de même, s'opacifie déjà après deux ou trois heures. Il semble donc que le principe inhibe totalement la croissance. Mais si on réalise cette expérience en employant une dose de principe beaucoup moindre, tout en étant encore très supérieure à la dose minimale active (par exemple de 10^{-2} à 10^{-4} goutte), on constate qu'au début le bouillon contenant le principe se trouble comme le témoin. Puis, à un moment donné, lequel en général est d'autant plus tardif que la quantité de principe est moindre, le trouble qui s'est constitué s'évanouit rapidement, cette clarification n'exigeant guère plus d'une demi-heure et parfois moins encore. Si la quantité de principe est un peu plus grande, la clarification plus précoce s'opère à un moment où la pullulation microbienne encore faible ne se révèle, dans le témoin comme dans le tube contenant du principe, que par une opalescence légère mais qui, néanmoins, témoigne de ce que le microbe s'est reproduit sans entraves pendant un certain temps avant d'être accessible à la lyse. On peut admettre ainsi que même si le principe agit à grande dose, la lyse est toujours précédée d'une vague de croissance, à vrai dire de courte durée; elle est l'aboutissement d'une période de vie active; elle s'effectue seulement lorsque la culture touchée par le principe est parvenue à un certain stade de son évolution, que pour faciliter le langage on peut appeler le stade critique de lyse. Cette notion que nous avons signalée (1) a été confirmée et précisée par Doerr et Grüniger (2), qui, s'aidant de numérations des bactéries, et de titrages du principe, ont trouvé que l'abondante régénération de celui-ci succède à une active multiplication des bactéries, tout en étant antérieure à leur lyse.

Si le principe est très faible ou n'agit qu'à dose très minime,

(1) Il s'agit ici de culture en bouillon légèrement alcalin, c'est-à-dire offrant une réaction très propice à la lyse. Mais, antérieurement déjà, GRATIA (*C. R. Soc. Biol.*, **84**, 1921, p. 273), signalant que l'acidité est défavorable à la lyse, observa qu'un bouillon acide (pH 6,8), ensemencé de *B. coli* et additionné de principe, peut déjà présenter un léger trouble après deux ou trois heures, tout à fait comme la culture normale, mais que la lyse apparaît bientôt après cette vague de croissance.

(2) DOERR et GRUNIGER. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1922.

DOERR. *Schweiz. med. Woch.*, 1924.

on conçoit *a priori* que les microbes, en se reproduisant, puissent épuiser parfois leur milieu de culture avant d'atteindre le stade critique, c'est-à-dire avant que la tendance à l'autolyse, communiquée par le principe, se soit suffisamment développée, et par conséquent ne manifestent point la lyse, mais que celle-ci puisse finalement apparaître si l'on repique les germes dans un nouveau bouillon, de façon à permettre à la multiplication de se continuer. De telles conditions sont en effet réalisables, la lyse ne survenant alors qu'à la faveur d'un ou de deux repiquages, ainsi que je l'ai constaté pour ce qui concerne le *b. Shiga* impressionné par un principe très faible. On peut prévoir, en outre que, dans de pareils cas, on risque de ne pas pouvoir mettre le principe en évidence, c'est-à-dire de ne pas observer la lyse, si l'on a recours au procédé habituel des passages comportant, à chaque transfert du principe, en vue d'éliminer les germes résistants, une stérilisation par filtration ou chauffage. En effet, si l'on supprime les microbes qui commençaient seulement à être impressionnés par le principe, mais ont néanmoins épuisé le milieu nutritif sans avoir atteint leur stade critique de lyse et sans régénérer encore l'agent lytique, celui-ci ne se reproduira pas davantage dans les passages ultérieurs. Mieux vaut donc, en pareil cas, le simple repiquage, qui permet à l'évolution des microbes impressionnés de se poursuivre dans un nouveau milieu. On peut imaginer d'ailleurs que même le repiquage en série n'aboutisse pas, malgré la présence de principe, à une lyse bien perceptible, la sélection conduisant à l'apparition de germes moins vulnérables équilibrés à la concentration du principe. Dans ces conditions la lyse ne s'observera que si l'on fait intervenir comme réactif une culture plus sensible.

Que les microbes portés au contact du principe ne puissent subir la lyse qu'au bout d'un certain temps de multiplication, cette notion concorde avec le fait que les suspensions trop épaisses se clarifient fort mal. Dans ces conditions, la régénération du principe est médiocre. En effet, les bactéries trop nombreuses épuisent le milieu nutritif avant d'atteindre le stade critique. J'ai constaté avec Ciuca (1) que si l'on introduit

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 86, 23 janvier 1922, p. 295.

une trace de principe dans deux tubes de bouillon, ceux-ci étant ensuite additionnés, l'un d'une dose minime, l'autre d'une dose énorme de microbes (*B. coli*), le principe se régénère dans le premier, tandis qu'il ne se reproduit pas dans le second. Ce résultat nous a semblé peu compatible avec la théorie du virus. On ne conçoit pas aisément que le parasite ne puisse pas prospérer aux dépens des microbes, lorsque ceux-ci lui sont offerts en nombre considérable.

La quantité de microbes qu'en présence d'un peu de principe on délaie dans un volume déterminé de bouillon peut être choisie de telle façon que la lyse ne s'effectue qu'avec une grande lenteur, tout en étant susceptible de s'effectuer promptement si, à un moment donné, on ajoute un volume important de bouillon. Dans une suspension assez épaisse de *b. Shiga*, introduisons un peu de principe. Le lendemain, la clarification est encore inappréciable. A ce moment, prélevons V gouttes que nous transportons dans un tube de bouillon; d'autre part, introduisons aussi V gouttes dans un tube de solution physiologique. Du fait de l'addition de la suspension, les deux tubes sont nettement opalescents; portons-les à l'étuve. Au bout de quelques heures, le tube de bouillon s'est clarifié, l'autre a conservé son trouble; l'évolution des microbes a pu se continuer jusqu'au stade critique et à la lyse dans le bouillon, mais ne s'est pas poursuivie dans la solution salée qui n'est pas nutritive.

Pour se régénérer, le principe exige non seulement que les microbes soient vivants, mais encore, comme je l'ai observé avec Jaumain (1), qu'ils soient alimentés. Dans deux tubes, l'un de bouillon, l'autre de solution physiologique ou de Ringer, et qui contiennent tous deux une trace de principe, on introduit quelques gouttes d'une suspension épaisse de *B. coli*; on trouve que le principe se reproduit dans le premier et non dans le second, lequel, d'ailleurs, conserve son opalescence. Mais il suffit d'ajouter à celui-ci un peu de peptone ou d'extrait de viande pour que le principe y soit régénéré. On ne conçoit guère qu'un virus parasite de microbes vivants ne puisse en tirer parti lorsqu'ils baignent dans la solution physiologique.

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 85, 10 décembre 1921, p. 1095.

Dans le même ordre d'idées, une expérience démonstrative consiste à étaler sur gélose une goutte d'un bouillon ensemencé de *b. Shiga* et qui, contenant une forte dose d'un principe puissant, s'est maintenu limpide pendant plusieurs jours. Au bout d'une quinzaine d'heures, on voit apparaître sur le milieu solide des colonies dont l'aspect est tout d'abord normal, mais qui, quelques heures plus tard, se flétrissent complètement en subissant une lyse totale : celle-ci est précédée d'un développement luxuriant.

Le rôle important que jouent les conditions d'alimentation permet d'expliquer un phénomène à première vue assez paradoxal et fréquemment observé (1). Dans le bouillon additionné d'agent lytique et ensemencé d'une goutte de culture, la clarification, et même la régénération du principe sont, au bout de deux ou trois jours d'étuve, plus prononcées si la dose initiale de principe ajouté au bouillon a été modérée que si elle a été relativement considérable. Dans le premier cas, en effet, les microbes sensibles peuvent se multiplier plus abondamment et participent en grand nombre à l'élaboration du principe ; au moment où finalement ils se lysent, ils ont déjà presque épuisé le milieu nutritif, lequel est donc peu propice à la pullulation ultérieure de microbes résistants et par conséquent ne se retrouve plus. Si le principe est trop abondant à l'origine, la lyse trop précoce s'accomplit lorsque le liquide, encore bien nutritif, se prête encore au développement ultérieur de nombreux germes résistants.

RÔLE DE LA CONCENTRATION DU PRINCIPE. — Toutefois, le comportement du principe est parfois d'une analyse délicate, et si ce que je viens de dire se vérifie souvent, notamment s'il s'agit d'un principe fort et d'une culture suffisamment homogène quant à sa sensibilité vis-à-vis de celui-ci, il est des cas où une forte concentration du principe est nécessaire à une lyse généralisée. Il convient de considérer à ce propos les principes faibles.

Tout d'abord, sur quoi se fonde-t-on pour estimer que tel principe est faible ? Naturellement, on le qualifie de la sorte lorsque, son influence clarifiante étant éphémère, il laisse

(1) BORDET et CIUCA. *C. R. Soc. Biol.*, **87**, 24 juin 1922, p. 366.

bientôt pousser en abondance des microbes résistants qui troublent fortement le bouillon. Mais le fait qu'un tel principe est aisément toléré par certains individus microbiens ne signifie pas qu'il soit incapable d'impressionner énergiquement d'autres individus microbiens existant dans la même culture, et nous prévoyons dès lors que l'hétérogénéité de celle-ci va compliquer sensiblement le problème.

Supposons qu'une culture normale (*B. coli*) contienne deux types microbiens, l'un plus abondant et très sensible à un principe donné (principe F), l'autre beaucoup moins réceptif sans être toutefois complètement invulnérable. Dans un bouillon ensemencé d'une goutte de cette culture, introduisons une quantité modérée de ce principe, 1/100 de goutte par exemple. La multiplication des microbes sensibles sera très éphémère, mais au bout de quelques heures, les résistants seront devenus assez nombreux pour troubler fortement le liquide. Après deux ou trois jours, éprouvons la culture en l'ensemencant sur gélose : nous obtenons une couche microbienne normale qui n'offre aucune tache de clarification, et qui, constituée uniquement du type résistant, peut être reconnue grâce à des caractères spéciaux sur lesquels j'insisterai plus loin. Répétons maintenant l'expérience de la même façon, sauf que nous ajoutons au bouillon une dose plus forte (II gouttes par exemple) du principe. Les résistants poussent encore dans le bouillon, puis sur la gélose où on les transpose, mais la couche qu'ils développent sur le milieu solide se parseme de trous comme si elle subissait une véritable corrosion.

Nous voyons donc, en pareil cas, et pour le principe considéré (1), que la dose initiale de principe doit être forte pour qu'à leur tour les résistants se laissent impressionner, et ceci nous permet d'étudier plus attentivement le rôle de la concentration en fonction de la diversité des microbes.

Repiquons maintenant en série dans des tubes successifs de bouillon, tous les trois ou quatre jours, par ensemencement

(1) Etant donné que fréquemment un principe faible peut être renforcé, il y a des transitions entre principes faibles et principes forts. Il faut naturellement disposer, pour l'étude dont il s'agit ici, d'un principe de force convenable en rapport avec la nature de la culture. Je signalerai plus loin comment ce principe F a été obtenu.

d'une goutte, la culture en bouillon précédente, qui avait reçu une forte dose de principe. L'adaptation des résistants au principe s'affermirait bientôt de telle sorte que le développement est abondant et rapide, sans lyse appréciable. Et cependant l'on constate que la culture, malgré les nombreux passages, contient toujours du principe que l'on peut déceler en l'éprouvant, après filtration ou chauffage à 58°, sur le *B. coli* normal dont on est nanti. Les germes sont devenus bien réfractaires au principe ; pourquoi dès lors le reproduisent-ils à chaque passage ?

Prenons l'une de ces cultures, ensemençons-en une goutte dans un premier tube contenant 5 cent. cubes de bouillon. Agitons celui-ci et transportons-en une goutte dans un second tube. De ce second tube, transportons une goutte dans un troisième ; procédons ainsi jusqu'à un sixième tube et portons à l'étuve. Une culture apparaît dans les quatre ou cinq premiers tubes. Chauffons ou filtrons une partie de ces cultures et éprouvons les liquides stérilisés sur le *B. coli* normal. On trouve, en général, que seuls les deux premiers tubes ont reproduit le principe. Dans les suivants, l'extrême dilution a débarrassé les germes du principe initial, ces microbes se comportant désormais comme des résistants non lysogènes ou qui tout au moins ne fabriquent pas de principe décelable. En somme, la culture initiale ensemencée contenait peu de principe par rapport au nombre total des microbes, et parmi ceux-ci, la majorité au moins cessent d'être lysogènes lorsque la dilution les sépare du principe. Reprenons maintenant la portion non filtrée (ou non chauffée) du tube 4, et recherchons comment les microbes vivants qui s'y trouvent se comportent vis-à-vis du principe. Ensemençons une goutte de cette culture dans un tube de bouillon additionné d'une goutte (ou moins encore) de liquide filtré (ou chauffé) provenant du tube 1 ou du tube 2 (où le principe s'est reproduit) ; d'autre part, ensemençons d'une goutte de *B. coli* normal un bouillon contenant la même quantité du même liquide. Nous trouvons que le principe se reproduit dans ce dernier tube, mais non dans celui qu'on a ensemencé du microbe résistant provenant du tube 4. Mais si, dans une expérience comparative, on introduit ce microbe, non pas dans du principe très dilué (c'est-à-dire dans un tube de bouillon qui n'en contient qu'une goutte), mais

dans le même principe beaucoup plus concentré (mélangé par exemple à un volume égal de bouillon), on trouve qu'il reprend l'aptitude à régénérer le principe lorsqu'on le transplante ensuite dans du bouillon. Bien entendu, on recherche le principe dans un liquide en éprouvant celui-ci sur le *B. coli* normal, que le principe modifie comme il sera dit plus loin. Nous aboutissons ainsi à cette conclusion que le *B. coli* résistant, étudié dans cet exemple, se distingue du *B. coli* normal en ce qu'il exige, pour reproduire le principe F, que celui-ci agisse sur lui en concentration notablement plus élevée. Sans doute les partisans de l'hypothèse du parasite invisible expliqueront-ils ce fait en admettant que les unités virulentes capables de s'attaquer à des microbes relativement résistants sont toujours en faible minorité et ne parviennent pas à prédominer malgré les repiquages répétés.

Remarquons-le, c'est parce qu'une concentration suffisante a pu agir sur les microbes que le principe se perpétue lorsqu'on repique en série la culture où, en sa présence, des résistants se sont développés. En effet, lorsqu'on ensemente, on transporte dans le bouillon suivant une goutte de culture contenant du principe non encore dilué et des microbes que ce principe concentré a pu impressionner avec l'énergie voulue pour que la régénération s'effectue.

§ 3. CONDITIONS DE DÉVELOPPEMENT DE L'AGENT LYTIQUE SUR GÉLOSE.

Faisons observer tout d'abord que la gélose, milieu de consistance solide, est en réalité du bouillon presque pur, puisqu'on ne lui incorpore pour le solidifier que 2 p. 100 de gélose. Il en résulte que, si l'on étale à sa surface une ou deux gouttes de bouillon, le tube étant ensuite maintenu en position verticale, la couche de ce bouillon qui, par adhésion, se maintient sur la surface solide, doit être extraordinairement mince. S'il s'agit d'une suspension microbienne, un certain nombre de bactéries resteront, grâce à l'affinité de contact, accrochées à la surface, mais les substances qui pouvaient exister à l'état dissous dans la suspension ne se trouveront plus qu'en dose extrêmement minime au contact immédiat des bactéries. En

somme, le fait que celles-ci s'arrêtent sur la gélose a pour conséquence de les débarrasser du liquide où elles baignaient et que la pesanteur entraîne au fond du tube. Si l'on étale une suspension contenant du principe, celui-ci n'agira donc sur les bactéries adhérant à la gélose que sous un état de concentration très faible, à moins qu'il n'ait eu le temps déjà de pénétrer dans les corps microbiens eux-mêmes et d'y exercer son influence. Il en résulte que, d'une façon générale, les microbes existant dans une suspension additionnée de principe auront plus de chances de donner une culture bien visible si on les repique sur gélose que si on les transpose en bouillon, car ils atteindront moins vite leur stade critique de lyse.

LE PRINCIPE EST-IL CORPUSCULAIRE? Nous l'avons rappelé, le fait qu'une suspension microbienne additionnée d'une trace de principe et qu'on étale sur gélose y fait apparaître une couche microbienne constellée de taches claires d'autant plus nombreuses que le principe était plus abondant, est invoqué à titre d'argument essentiel par les partisans de la théorie du virus. Assurément, tel doit bien être l'aspect de la culture si l'agent lytique est un virus, c'est-à-dire consiste en corpuscules dont la surface gélosée se parseme. Mais il est tout aussi évident que l'aspect ne saurait être différent si le principe est une substance dissoute ou à l'état colloïdal, pourvu bien entendu qu'on accepte cette notion, quasi certaine *à priori*, que les individus peuplant une suspension ne sont pas tous exactement pareils et notamment témoignent vis-à-vis de l'agent lytique des susceptibilités différentes.

Gratia a, le premier, développé très justement ce point de vue (1). Il a montré tout d'abord que de la culture normale du *B. coli* on peut obtenir, par isolement sur gélose, des colonies qui, repiquées, fournissent des cultures inégalement sensibles à l'action d'un même principe. Il a montré ensuite que si, sur la surface des géloses qu'on vient d'ensemencer respectivement de chacune de ces souches, on laisse couler une goutte de ce principe, on obtient sur les cultures des nombres très différents de taches claires. Par conséquent, dans une telle expérience,

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 84, 26 mars 1921, p. 750.

cette inégalité est en rapport, non pas avec l'abondance de l'hypothétique virus, puisqu'elle est partout la même, mais avec le nombre variable d'individus microbiens sensibles existant dans les divers ensemencements. Cette donnée me paraît incontestable. J'ai souvent éprouvé sur des microbes de même espèce, mais de sensibilité différente, des principes d'inégale énergie. On dispose, par exemple, de deux principes, l'un faible, l'autre plus puissant, agissant tous deux sur le *B. coli*. Ensemencé dans un bouillon contenant du principe faible, le *B. coli* normal donne lieu à l'apparition de microbes qui résistent fort bien à ce principe faible, mais qui sont encore vulnérables par le principe fort, tout en l'étant moins que la culture normale primitive. Transplantés sur gélose qu'on arrose ensuite de principe, ces résistants poussent sans montrer aucune zone de lyse s'il s'agit du principe faible; ils donnent des taches s'il s'agit du principe fort, mais ces taches sont clairsemées, tandis que le même principe fort fait apparaître des taches confluentes si la gélose a été ensemencée avec la culture normale.

J'ai insisté plus haut sur le rôle important du facteur concentration, lequel se révèle avec une netteté particulière si l'on met en jeu des microbes doués d'une résistance appréciable. Tel germe qui manifeste une insensibilité complète si la concentration ne dépasse pas un certain taux, se laisse impressionner quand elle s'élève. En conséquence, si l'on diminue progressivement la dose de principe que l'on ajoute à une suspension de microbes normaux, on arrivera forcément à une dilution telle que, parmi des millions de microbes, quelques-uns seulement seront doués de la sensibilité voulue pour être influencés. Introduisons, dans 10 cent. cubes de suspension de microbes normaux, cette dose limite de principe. Immédiatement après, répartissons la suspension, à la dose de 4 cent. cube, dans 10 tubes stériles. On trouve que, parmi les 10 tubes, les uns présentent la lyse, les autres ne la manifestent pas. Si l'on accepte la théorie de l'autolyse, on doit penser que la suspension renfermait moins de 10 microbes suffisamment sensibles pour régénérer le principe. Cette expérience, due à d'Hérelle, plaide selon lui pour la théorie du virus. Il considère en effet que les 10 cent. cubes de suspension contiennent

moins de 10 unités virulentes. Mais nous voyons que le résultat peut s'expliquer aussi bien par l'inégale susceptibilité des bactéries vis-à-vis du principe. Qu'elles puissent manifester à cet égard des différences individuelles aussi marquées, d'Hérelle ne doit pas s'en étonner, car lui-même a démontré que cette diversité est réelle. Si l'on accepte qu'en présence d'une dose infinitésimale de principe, seuls quelques individus microbiens, parmi leurs innombrables congénères, se montrent impressionnables, il est juste de prévoir que, symétriquement, seuls de très rares germes seront capables de résister si la suspension a reçu une forte dose de principe très puissant, et c'est bien cela que d'Hérelle a prouvé (1). Il introduit du principe dans un litre de suspension de *b. Shiga*, qu'il répartit ensuite en 100 tubes par portions de 10 cent. cubes. La plupart de ces tubes de 10 cent. cubes restent limpides, quelques-uns se troublent en raison du développement de bacilles résistants. L'hétérogénéité des cultures microbiennes est, au surplus, l'une des notions que la bactériologie moderne a révélées le plus clairement et c'est à elle qu'il faut attribuer le caractère parfois un peu capricieux des résultats. Par exemple, il n'est pas très rare d'observer que deux mélanges identiques de microbes et de principe, préparés au même moment et de la même façon, ne se comportent pas exactement de même, et l'on se sentirait un peu décontenancé devant de telles discordances, si l'on n'avait pas présente à l'esprit la notion de la variabilité microbienne.

Le rôle de la concentration ne doit pas être perdu de vue lorsqu'on exprime cette notion qu'à la surface d'une gélose ensemencée, sur laquelle on a laissé couler en traînée une goutte de principe, les taches apparaissent aux endroits où se trouvaient des microbes réceptifs. Il s'agit évidemment de la réceptivité des microbes par rapport à la concentration du principe. Or, il arrive que des microbes d'espèce différente exigent, pour être impressionnés, des concentrations différentes. J'ai pu recueillir à ce propos un exemple très net, relatif à un principe agissant à la fois sur les *B. coli* et *Shiga*, longtemps entretenu sur le *B. coli*, mais qui venait de subir

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 83, 1920, p. 97.

quelques passages en présence de *b. Shiga*. Signalons immédiatement que ce principe, lorsqu'il est régénéré par le *b. Shiga*, est aussi actif vis-à-vis du *B. coli* que s'il est reproduit par le *B. coli* lui-même. Etalons une goutte de *B. coli* sur toute la surface d'un tube de gélose et ensemençons pareillement un second tube de *b. Shiga*. Une demi-heure plus tard, laissons couler en traînée, sur les deux surfaces, une gouttelette du principe (débarrassé bien entendu du *b. Shiga* par filtration ou chauffage à 57°). On constate, après séjour à l'étuve, que dans le tube à *B. coli*, la gélose reste nue sur tout le parcours de la traînée; le principe était donc assez concentré pour couvrir tous les points de celle-ci. Au contraire, ce même principe, dans le tube à *b. Shiga*, ne donne sur le trajet de la traînée que des taches claires assez distantes, entre lesquelles se multiplient des microbes normaux. A vrai dire, ces taches s'élargissent beaucoup dans la suite, ce qui indique que le principe, reproduit au niveau d'un microbe spécialement réceptif primitivement impressionné, peut attaquer secondairement, parce que cette fois il est très concentré, les microbes normaux circonvoisins qui s'étaient développés. Mais la faible concentration initiale de principe, celle qui régnait sur les surfaces des géloses au moment où les traînées venaient d'être faites, et qui suffit à conférer le pouvoir lysogène à de très nombreux *B. coli*, ne produit cet effet que sur de rares *b. Shiga*. Ce que le nombre de taches dénonce, c'est donc la proportion des microbes réceptifs en fonction de la concentration initiale régnant sur la surface de la gélose.

Je cite cet exemple, car il me paraît peu conciliable avec la théorie du virus. Selon celle-ci, il faudrait croire que les parasites qui se trouvent sûrement fort nombreux tout le long de la traînée, sont moins virulents pour les *b. Shiga*, puisqu'ils n'attaquent parmi ceux-ci que de rares individus. Mais comment expliquer alors que, dès qu'une tache a pu apparaître sur la culture de *b. Shiga*, elle s'agrandit beaucoup en rongant la couche microbienne environnante? Le principe qui, à ce niveau, se régénère, est donc très virulent pour le *b. Shiga*, et il est sûrement identique à celui qu'on avait déposé en traînée, puisque celui-ci lui-même a été obtenu en bouillon aux dépens du même *b. Shiga*. D'ailleurs, si l'on opère en bouillon, on

constate que la limpidité du milieu se maintient beaucoup plus longtemps dans le cas du *b. Shiga* que dans celui du *B. coli*, lequel donne lieu beaucoup plus aisément à l'apparition ultérieure de germes résistants. Le principe est donc au moins aussi lytique pour le *b. Shiga* que pour le *B. coli*. S'il s'agit d'un parasite, on ne comprend guère que chaque unité virulente capable d'envahir le *B. coli* ne soit pas également apte à attaquer le *b. Shiga*. Dans la théorie de l'autolyse, on conçoit sans peine que les concentrations minimales respectivement exigées par deux espèces microbiennes différentes pour le déclenchement du phénomène ne soient pas identiques. D'une façon générale, au surplus, l'importance du facteur concentration représente pour la théorie du virus une sérieuse difficulté.

ASPECT ET DIMENSIONS DES TACHES. — Recherchons maintenant de quels facteurs peut dépendre l'aspect de ces taches claires disséminées, dites plages, qui trahissent si visiblement la lyse à la surface d'une gélose ensemencée de suspension contenant une dose relativement minime de principe. Elles se produisent aux points où se sont déposés des microbes assez sensibles pour que la faible concentration du principe suffise à les impressionner. Après une période de multiplication plus ou moins longue, ces germes atteignent leur stade critique, et le principe est abondamment reproduit. Ainsi la tache claire s'élargit concentriquement. Mais son expansion se limite bientôt du fait que les microbes ne peuvent reproduire le principe qu'à la condition d'être nourris. Ceux qui se sont multipliés sur un point trop éloigné du centre d'irradiation de la plage ont épuisé le milieu avant que le principe émanant de celle-ci ait pu, de proche en proche, progresser jusqu'à eux. Mais cette vitesse de propagation du principe dépend elle-même du laps de temps qui s'écoule entre le moment où le microbe est touché par l'agent lytique et celui où il atteint, en se multipliant, son stade critique de libération de principe et de lyse. Or la durée de cette période semble bien être en rapport avec la nature du type microbien et corrélativement (1) avec la nature du prin-

(1) Je reviendrai sur cette question de l'appropriation des différents principes aux variétés diverses qui peuvent exister au sein d'une même espèce microbienne.

cipe mis en jeu. En effet, l'étude du phénomène dans les milieux liquides révèle que, parmi les types microbiens qu'on peut extraire d'une culture de *B. coli* par exemple, certains manifestent, toutes choses égales d'ailleurs, une tendance qui leur est inhérente à se lyser précocement, après une période de multiplication très brève, tandis que d'autres se cultivent tout d'abord abondamment pour ne subir qu'une lyse tardive. Ces considérations montrent que les dimensions finalement affectées par les taches résultent de ces divers facteurs qui se combinent, la rapidité de multiplication des microbes et corrélativement la promptitude avec laquelle le milieu nutritif s'épuise, la vitesse de propagation du principe et corrélativement les particularités inhérentes aux différents types microbiens. Mais le phénomène peut se compliquer encore de l'intervention de germes résistants qui se multiplient plus ou moins précocement dans la tache même où la lyse s'effectue; cette culture secondaire étant lysogène tend à augmenter la quantité de principe, de telle sorte que fréquemment, dans ces conditions, un halo de léger éclaircissement, large parfois de 2 à 3 millimètres, apparaît en dehors de la tache, empiète comme une bordure sur le gazon microbien avoisinant. De tels halos s'observent le mieux lorsqu'il s'agit de principes assez faibles, qui laissent venir les résistants; souvent ils disparaissent promptement, la prolifération microbienne n'étant pas suffisamment entravée.

Sans qu'il soit nécessaire d'insister davantage sur l'aspect que les taches peuvent revêtir, on comprend aisément, en tenant compte de ce qui vient d'être dit, que leurs dimensions soient variables. Or, ici se place un fait remarquable. Bail (1), Asheshov (2), Watanabé (3) ont signalé qu'un même liquide lytique peut donner lieu à la production de grandes et de petites taches, et que, de plus, le repiquage de chacun de ces deux types de taches fournit deux principes enclins à reproduire fidèlement l'image de la tache dont ils procèdent, l'un faisant apparaître de grandes taches et l'autre des petites. Ces deux principes semblent être doués d'une individualité nette qui se

(1) *Wiener klin. Woch.*, nos 20 et 27, 1921; nos 6 et 8, 1922.

(2) *C. R. Soc. Biol.*, 87, p. 1342.

(3) *Zeitschrift für Immunitätsforsch.*, 37, 1923, p. 106.

trahit par leur inégale résistance à la chaleur (le principe donnant de petites taches étant le plus résistant) et aussi, d'après Watanabé, par le fait qu'ils ne sont pas tous deux neutralisables par le même sérum antilytique. Signalons à ce propos que Bruynoghe et Wagemans avaient, antérieurement déjà, constaté qu'un même liquide lytique, actif par exemple sur le *B. coli*, peut recéler des principes qui ne sont pas identiques, en ce sens qu'ils sont justiciables de sérums antilytiques différents.

Dans la théorie du parasite invisible, on interprète ces faits en disant que l'espèce bactériophage comporte plusieurs variétés virulentes qui se distinguent par les particularités des phénomènes lytiques auxquels chacune d'elles préside. Dans l'hypothèse de l'autolyse, la diversité des principes attaquant une espèce bactérienne donnée trouve son explication dans la multiplicité des types bactériens qui les élaborent et qui peuvent coexister au sein de cette même espèce.

§ 4. PUISSANCE DES LIQUIDES LYTIQUES ET RÉSISTANCE DES MICROBES. APPROPRIATION DES PRINCIPES AUX DIVERS TYPES MICROBIENS.

OBTENTION D'UN PRINCIPE FAIBLE OU PARTIEL. — Prenons un principe très actif, capable de maintenir presque limpide, pendant plusieurs jours, un bouillon dans lequel on a ensemencé du *B. coli*. Il est logique de présumer que, si l'on met un nombre assez important de bactéries en présence d'une faible dose d'un tel principe, certaines d'entre elles, plus réceptives, seront impressionnées avant les autres. Dans un tube de bouillon qu'on vient d'ensemencer de 11 gouttes de culture de *B. coli*, introduisons une dose de liquide lytique assez minime pour que l'étalement d'un peu de ce bouillon sur gélose, pratiqué immédiatement après l'addition du principe, ne donne pas lieu à l'apparition de taches claires, c'est-à-dire fournisse sur le milieu solide une culture d'aspect parfaitement normal. Les microbes qui se sont déposés sur la gélose maintenue verticalement, et qui se sont ainsi débarrassés du liquide contenant le principe, n'ont pas subi le contact de celui-ci assez longtemps pour en ressentir l'influence. Mais répétons l'ensemencement du bouillon sur gélose au bout d'un certain délai, trente ou quarante-cinq mi-

nutes par exemple. Cette fois, quelques individus microbiens ont été impressionnés, de sorte que la culture obtenue se montre parsemée de rares points de légère clarification, au centre desquels s'effectue d'ailleurs un développement secondaire de germes résistants. En repiquant ces points dans du bouillon, nous obtenons une culture P, laquelle contient un principe F résultant de l'intervention des microbes spécialement sensibles qui, dans le bouillon primitif, avaient été impressionnés les premiers. Cette culture est constituée de microbes résistants à ce même principe et qui, comme nous allons le voir, offrent des caractères particuliers, notamment l'agglutinabilité spontanée. Le principe F qu'on se procure de la sorte mérite, comme je l'ai signalé (1), d'être dénommé principe faible. Car, introduit après filtration dans un bouillon qu'on ensemence de culture normale de *B. coli*, il permet, au bout d'un délai de quelques heures, l'abondant développement des microbes résistants dont il vient d'être question. Et ces résistants sont aisément reconnaissables, car ils se rattachent à l'une des deux variétés principales que l'on peut sans difficulté retirer d'une culture normale de *B. coli*. Comme l'ont montré divers auteurs, notamment Baerthlein (2), Arkwright (3), l'isolement sur gélose d'une culture appartenant au groupe coli-typhique fournit d'habitude deux types bien distincts de colonies isolées ; les unes B, assez bombées, sont translucides, luisantes et ne s'étalent guère ; les autres P, sont plates, plus opaques, d'aspect granuleux et tendent à s'élargir en prenant des contours irréguliers ; repiquées en bouillon, elles fournissent des agglutinats qui bientôt se déposent sans troubler le liquide, tandis que les colonies bombées développent en bouillon une opacité diffuse. Or, si l'on éprouve sur ces deux cultures le principe F, obtenu comme il vient d'être dit, on trouve qu'il agit beaucoup plus énergiquement sur le type B que sur le type P, lequel, en sa présence, pousse sans délai appréciable. Et c'est pourquoi nous obtenions d'emblée, dans l'expérience citée ci-dessus, une culture agglutinée en repiquant

(1) *C. R. Soc. Biol.*, **87**, 14 octobre 1922, p. 987.

(2) *Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamt*, 1912 ; *Centralbl. für Bakter. Orig.*, 1918.

(3) *Journal of Pathology and Bacteriology*, **24**, 1921.

en bouillon les taches claires apparues sur gélose. Bien plus, mis en présence des microbes du type bombé, le principe F fait apparaître à leurs dépens des germes résistants du type plat; il oriente en quelque sorte la culture dans un sens déterminé, il la transforme.

En résumé, il est bien remarquable que l'on puisse, par une procédure très simple, obtenir, en partant d'un principe fort, un principe F qui élimine le type B mais qui paraît faible parce qu'il ménage le type P. Avant de chercher à expliquer une telle métamorphose de l'agent lytique, demandons-nous si l'on ne pourrait se procurer un principe, qui, à l'inverse du précédent, s'attaquerait de préférence aux microbes du type P.

Gratia (1) a rattaché les résultats ci-dessus rappelés aux constatations de Bail relatives aux dimensions des taches. J'ai mentionné plus haut que Bail, opérant sur un principe très actif, observa l'apparition sur gélose de grandes et de petites taches, et constata de plus qu'en repiquant ces taches on obtenait deux principes distincts, ne donnant plus, l'un que de grandes, l'autre que de petites taches. Or, Gratia a constaté que le principe à grandes taches est celui qui s'attaque au *B. coli* du type B, tandis qu'inversement le principe à petites taches lyse avec prédilection le type plat P, c'est-à-dire fait apparaître, lorsqu'on le met en présence de la culture normale de *B. coli*, des résistants du type bombé.

Ces deux principes sont en quelque sorte symétriques, et comme on le prévoit aisément, on obtient en les mélangeant un liquide qui se comporte comme un principe puissant, puisqu'il s'adresse à la fois aux deux types microbiens dont la culture normale de *B. coli* se compose. Mais on doit se demander si ces deux principes sont foncièrement différents, s'ils ne se transforment jamais l'un dans l'autre. Sans doute pourrait-on répondre catégoriquement à cette question si les deux types microbiens qui servent de réactifs à ces deux variétés de principes restaient eux-mêmes parfaitement immuables à travers les repiquages. Mais cette fixité est loin d'être absolue; les cultures de *B. coli* manifestent une tendance prononcée à la variation. Par exemple, après un nombre suffisant de repiquages

(1) *C. R. Soc. Biologie*, **89**, 1923, p. 821 et 824.

en bouillon, la culture du type B fournit en proportion appréciable l'autre type de colonie. Même tout récemment isolé, le type B additionné de principe F donne une culture du type P. Au surplus, nous sommes très frappés par les particularités d'aspect des colonies, parce qu'étant très visibles elles sollicitent vivement notre attention, mais nous ignorons si elles correspondent à des caractères biologiques profonds, et s'il ne pourrait exister, entre certains individus microbiens et corrélativement entre les colonies dérivant de ceux-ci, des différences biologiques en réalité plus importantes, mais que l'aspect ne trahit pas. Bref, si à un moment donné nous trouvons qu'un microbe affectant telle forme de colonies est spécialement réceptif à un principe déterminé, nous ne pouvons pas garantir que ces deux caractères soient nécessairement associés.

Quoi qu'il en soit, il convient de rechercher si les propriétés spéciales du principe F sont vraiment stables, c'est-à-dire s'il conserve à travers les passages sa propriété de permettre, lorsqu'on le met en présence de la culture normale de *Bacille coli*, l'abondante multiplication du type P vis-à-vis duquel il paraît être inactif. Or, on constate que ce caractère se maintient si l'on a soin, à chaque passage, de ne mettre en jeu qu'une faible dose de principe obtenu par filtration ou chauffage de la culture précédente. Dans ces conditions, le type P qui se développe semble réellement invulnérable. Mais introduisons, dans un tube de bouillonensemencé de *Bacille coli* normal, une quantité de principe beaucoup plus forte, quelques gouttes par exemple, puis repiquons d'une part en bouillon, d'autre part sur gélose, la culture agglutinée qui s'est développée. Sur gélose, un gazon d'abord luxuriant apparaît, qui bientôt se troue de taches lytiques; c'est l'expérience que j'ai déjà citée dans le paragraphe II à propos de l'influence de la concentration. En bouillon, on obtient une nouvelle culture que l'on repique ensuite en série de bouillon à bouillon, et l'on constate bientôt que les résistants, qui se développent toujours en abondance, tandis que le principe se perpétue (1), n'appartiennent plus tous au type P agglutinable; les cultures présentent bientôt un trouble plus diffus, et l'isolement, pratiqué à

(1) C'était de ce principe qu'il s'agissait dans le paragraphe II, où j'ai signalé l'influence de la concentration sur la régénération de l'agent lytique.

ce moment, fournit aussi bien des colonies du type bombé que des colonies du type plat; ces colonies résistent d'ailleurs toutes au principe. Après un nombre suffisant de repiquages, on constate que le principe n'est plus du principe faible F, il est redevenu du principe fort identique à celui dont on était parti dans l'expérience initiale pour obtenir le principe F (1). Il a récupéré l'aptitude à attaquer les divers types microbiens présents dans la culture normale; corrélativement, les résistants qui, en sa présence, ont pu se développer, appartiennent également à des types divers. Brutsaert a constaté aussi que les passages peuvent renforcer un principe faible (2).

En somme, le principe F, qui, à l'origine, attaque avec une préférence extrême le type B, peut en s'adaptant déterminer la lyse du type P. Mais il convient de signaler que les deux variétés microbiennes, si différentes par l'aspect des cultures sur gélose et des cultures en bouillon, se distinguent aussi par les particularités de leur lyse, et notamment par la durée de la période de multiplication qui précède le stade critique. Dans le cas du type B, la lyse est précoce, les microbes se multiplient discrètement avant de la subir. Au contraire, le type P ne se lyse qu'après une période assez prolongée de prolifération.

Nous pouvons comprendre maintenant comment le principe F a pu être obtenu aux dépens d'un principe puissant. Il provient du type microbien qui se laisse impressionner le plus promptement par des traces du principe et qui, corrélativement, le reproduit aussi le plus rapidement. Ces microbes ont sélectionné l'agent lytique sous la forme qui leur est le plus appropriée et l'ont régénéré en lui imprimant certaines parti-

(1) Il y a lieu d'éprouver comparativement, par le procédé des trainées sur gélose, soit sur le microbe du type P, soit sur la culture normale de *Bacille coli* (qui contient beaucoup de microbes du type B), d'une part le principe F conservé tel quel sans avoir subi de passages, et enfin le même principe renforcé. On constate que le microbe P ne donne pas de taches claires sous l'influence du principe F; au contraire, il est attaqué par le principe fort originel et par le principe F renforcé; il se produit une trainée de clarification continue, qui, plus tard, se parseme de quelques colonies résistantes. Sous l'influence du principe F, la culture normale de *Bacille coli* donne une trainée apparente, d'abord très claire, mais qui promptement se recouvre d'une couche opaque de microbes du type P. Traitée par le principe fort originel ou le principe F renforcé, la culture normale donne une trainée claire qui reste nue ou ne présente dans la suite que de rares colonies résistantes.

(2) *C. R. Soc. Biol.*, 89, 1923.

cularités qui représentent en quelque sorte un cachet d'origine. Il faut bien admettre, en effet, que le principe n'est pas toujours pareil à lui-même, qu'il peut se présenter sous des états quelque peu différents selon la nature spéciale du germe qui l'a élaboré, et l'on songe à ce propos à cette notion classique que les albuminoïdes sanguins d'individus divers d'une même espèce animale ne sont pas parfaitement identiques, ainsi que l'atteste la possibilité d'obtenir des isoanticorps. On conçoit ainsi qu'un principe produit par un type microbien déterminé n'impressionne que péniblement, et seulement à la faveur d'une concentration assez élevée, une autre race microbienne (1).

ADAPTATION DES PRINCIPES. — Cela étant donné, que doit-il se passer lorsqu'on tente d'adapter un principe à une espèce microbienne différente de celle qui, normalement, le régénère? A ce propos, un principe L, actif vis-à-vis du *b. Shiga* et constamment entretenu sur ce bacille, m'a fourni un exemple intéressant. Epruvé tout d'abord sur le *B. coli*, selon la méthode des trainées, il n'impressionnait qu'un petit nombre d'individus microbiens : la trainée ne montrait que des points de clarification très rares et peu apparents (2). En bouillonensemencé de *B. coli*, la régénération lors du premier passage était très médiocre; elle s'opéra plus activement au cours des passages suivants, de sorte que finalement l'épreuve sur géloseensemencée de *B. coli* donna une trainée de clarification continue, le principe ainsi reproduit conservant d'ailleurs toute son aptitude à lyser le *b. Shiga*. Il est légitime de penser qu'au cours des premiers passages le principe s'adresse, dans la culture de *B. coli*, à quelques individus microbiens offrant avec le

(1) Si l'on admet la théorie du virus, on supposera que les parasites invisibles se distinguent les uns des autres par les préférences qu'ils manifestent envers tel ou tel type microbien, l'adaptation ultérieure aux autres types étant d'ailleurs possible.

(2) Cependant le même principe éprouvé de la même façon sur le bacille *Shiga* donne une trainée de clarification continue, ce qui démontre, une fois de plus, que le nombre des plages est en rapport avec le nombre des microbes qui, sur la surface de la gélose et pour les conditions de concentration qui y règnent, se montrent sensibles au principe. J'ai cité plus haut le cas d'un autre principe qui, inversement, donnait une trainée claire continue sur géloseensemencée de *Bacille coli*, et quelques plages disséminées sur géloseensemencée de bacille *Shiga*.

b. Shiga les ressemblances les plus prononcées, constituant en quelque sorte une transition entre les deux espèces et jouant ainsi le rôle d'intermédiaires. Dans la suite, le principe élargit son champ d'action : sa concentration, qui s'élève en raison d'une régénération plus active, lui permet finalement d'atteindre les types microbiens qui, au début, se montraient résistants. Sa prédilection pour les germes offrant le plus d'analogies avec le b. Shiga devient moins exclusive, mais elle se fait sentir encore, les caractères propres du principe ne disparaissant pas : notamment, il attaque encore le b. Shiga. Parmi les caractéristiques d'un principe figure son comportement vis-à-vis d'un sérum antilytique déterminé. D'après Bruynoghe et Appelmans (1), un sérum antilytique peut neutraliser un bactériophage actif sur une espèce microbienne donnée sans se comporter semblablement vis-à-vis d'un autre bactériophage atteignant cette même espèce; en outre, un sérum antilytique qui neutralise un principe déterminé le rend encore inactif lorsque celui-ci a été adapté à une espèce microbienne différente. Selon Bruynoghe et Wagemans (2), un même liquide lytique peut contenir plusieurs principes distincts, dont chacun possède une réelle spécificité antigénique. Cette spécificité, la théorie du virus l'interprète en admettant plusieurs variétés de parasite invisible; la théorie de l'autolyse la conçoit en la faisant dépendre des qualités propres aux divers types microbiens qui, respectivement, sont le plus capables d'élaborer les principes en question. J'ai montré en 1910, avec Slëeswyk, qu'une même espèce microbienne (b. coquelucheux) peut donner lieu à deux types différents, en ce sens qu'ils permettent l'obtention d'immun-sérums différents, l'une de ces variétés n'absorbant pas l'agglutinine qui impressionne l'autre. Des faits du même genre ont été signalés par Sobernheim et Seligmann, Baerthlein, Mellon et Anderson, etc. Arkwright a montré, et ce fait est particulièrement instructif pour le sujet qui nous occupe, que les colonies du type plat et celles du type bombé, provenant d'une seule et même culture de b. typhique, de b. Shiga, etc., se distinguent sérologiquement; nous avons vu plus haut qu'à ces types divers peuvent correspondre sinon des

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 87, 1922, p. 96.

(2) *C. R. Soc. Biol.*, 89, 1923, p. 85.

principes foncièrement différents et qui ne puissent dériver l'un de l'autre, au moins des variétés distinctes d'un même principe; ajoutons d'ailleurs que la spécificité des sérums antilytiques appropriés à ces variétés, quoique réelle, n'est cependant pas absolue; par exemple, d'après Gratia (1), le sérum actif vis-à-vis du principe à grandes taches neutralise complètement celui-ci et partiellement le principe à petites taches. Assurément, cette question des relations entre la spécificité des types microbiens et celle des principes réclame des recherches complémentaires. Mais l'idée qu'un principe puisse être antigéniquement variable selon la nature particulière des individus microbiens qui le produisent est, dès à présent, vraisemblable. Quelle que soit l'espèce animale qui l'a fournie, la thrombine, agent immédiat de la coagulation, est fonctionnellement toujours la même; elle manifeste cependant une spécificité en rapport avec sa provenance, laquelle peut être révélée par les sérums anticoagulants.

L'étude des microbes lysogènes va nous permettre de mieux saisir la notion que l'agent lytique peut intervenir comme facteur de variation des cultures en assurant la prédominance de certains types microbiens.

§ 5. LES MICROBES LYSOGÈNES.

LYSOGÈNES ISOLÉS DE CULTURES TRAITÉES PAR LE PRINCIPE. — Lorsqu'on étale sur gélose un bouillon additionné de principe et qui, ayant été ensemencé de microbes et maintenu à l'étuve quelques jours, s'est troublé plus ou moins fortement, on obtient généralement soit un gazon microbien continu, soit des colonies disséminées dont le développement est plus ou moins pénible selon la nature du microbe et la puissance du principe. En général, la culture devient plus florissante au cours des repiquages ultérieurs sur gélose. Même le *b. Shiga*, s'il s'agit d'un principe d'énergie moyenne, peut fournir bientôt de la sorte des cultures vigoureuses et qui semblent normales. Le *B. coli* donne aisément des cultures très prospères, lesquelles

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 89, 1923.

offrent souvent, comme il a été rappelé plus haut, un aspect mucoïde très particulier.

Ces cultures successives, ainsi obtenues par repiquage en masse, contiennent régulièrement l'agent lytique, ce qui, d'après la théorie du virus, résulte de ce que chaque ensemencement transporte sur le nouveau milieu de culture, à côté de bactéries indemnes susceptibles de se multiplier avec luxuriance, une certaine proportion de bactéries parasitées.

Pour ce qui concerne le *B. coli* que nous utilisons couramment, j'ai montré avec Ciuca (1) (des résultats analogues ont été signalés peu après par Bruynoghe et Maisin) (2), que, si l'on soumet à la technique de l'isolement la culture qui a pu se développer en présence d'un principe puissant, on obtient des colonies séparées qui se comportent fort différemment; quelques-unes, assez chétives d'habitude, sont lysogènes; beaucoup d'autres sont insensibles au principe tout en ne le reproduisant pas (3); il en est encore qui sont sensibles sans être lysogènes. Bref, dans le cas de ce *B. coli*, le simple lavage que l'isolement réalise suffit à débarrasser du principe un grand nombre d'individus microbiens, lesquels désormais ne le régénèrent plus, ou tout au moins (nous verrons plus loin que cette réserve mérite d'être exprimée) ne le reproduisent plus sous une forme suffisamment active pour que les microbes qui servent de révélateurs puissent en dénoter la présence.

Que, d'une culture renfermant l'agent lytique, on puisse aisément extraire des bactéries résistantes qui se montrent complètement indemnes, c'est-à-dire ne manifestent pas le pouvoir lysogène, c'est un fait dont la théorie du virus s'accommode fort bien : la bactérie et le virus ont été séparés par l'isolement.

Seulement, on obtient dans d'autres cas un résultat tout différent. Des colonies bien éloignées les unes des autres, procédant donc chacune d'un individu microbien que l'extrême dilution a soigneusement lavé du liquide où il baignait à l'origine, peuvent être douées toutes du pouvoir lysogène. C'est ce que l'on constate, par exemple, en faisant agir sur le *b. Shiga* un principe L, de moyenne énergie, et sur lequel j'insisterai

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 84, mars 1921, p. 747.

(2) *C. R. Soc. Biol.*, 84, 1921, p. 847.

(3) Ainsi se comportent fréquemment les colonies mucoïdes.

plus loin. Introduit dans le bouillonensemencé de ce bacille, il donne lieu à une clarification évidente, mais bientôt suivie de la pullulation de germes résistants. Ceux-ci, soigneusement isolés sur gélose, fournissent des colonies séparées très luxuriantes et qui ne montrent aucun signe de lyse tout en étant lysogènes. Pour expliquer ce fait sans rejeter la théorie du virus, il faudrait accepter qu'une bactérie peut se multiplier même lorsqu'elle est porteur du parasite, c'est-à-dire qu'on est en présence d'un cas de véritable symbiose.

POUVOIR LYSOGÈNE SPONTANÉ. — Nous venons de considérer des colonies lysogènes dérivant de cultures où l'on a sciemment introduit l'agent lytique. Mais nous devons à Lisbonne et Carrère (1) une donnée d'un intérêt capital, à savoir que le pouvoir lysogène peut exister dans des cultures qui n'ont pas été artificiellement contaminées et qui, à tous égards, semblent parfaitement normales.

On s'en doute bien, divers expérimentateurs avaient tenté de déclencher la lyse en mettant en jeu des produits microbiens, notamment des filtrats de cultures âgées, qui représentent en somme des autolysats bactériens. A vrai dire, ces essais, auxquels il était fort naturel de songer, conduisent souvent à des échecs. Par exemple, ni le *B. coli* dont il a été souvent question ci-dessus, ni un autre *B. coli* extrait récemment des selles, ne m'ont jamais permis d'obtenir la lyse transmissible du *b. Shiga*. Sans doute doit-il exister entre le microbe dont on attend qu'il déclenche la lyse et celui qui, apte à la subir, sert de révélateur, une correspondance qui n'est pas toujours réalisée. Or, Lisbonne et Carrère ont disposé de plusieurs cultures, notamment d'un *B. coli* isolé des eaux (*coli L*), qui se comportent à cet égard d'une façon nettement positive. Ces auteurs ensemencent en bouillon le *b. Shiga*, puis, un ou deux jours plus tard, le *B. coli L*. Après quelques jours d'étuve, ils filtrent (on peut avec le même résultat chauffer à 57°3) cette culture où les deux microbes se trouvent mélangés, introduisent quelques gouttes du liquide stérile obtenu dans un nouveau bouillonensemencé de *b. Shiga*, filtrent après quelques jours cette nou-

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 86, 1922, p. 569.

velle culture, bref, procèdent de la sorte à quelques passages : bientôt le b. Shiga manifeste la lyse, laquelle est désormais indéfiniment transmissible. Celle-ci semble donc résulter de l'antagonisme microbien. A vrai dire, il n'est pas nécessaire que le *B. coli* L soit introduit vivant dans la culture de b. Shiga pour que le phénomène se déclenche : il suffit de mélanger tout d'abord une culture de b. Shiga et quelques gouttes d'une culture de *B. coli* L stérilisée à 57°5 et de réaliser ensuite les passages comme il vient d'être dit. On doit admettre que le *B. coli* L renferme le principe préformé, dont l'activité vis-à-vis du b. Shiga s'accroît ultérieurement grâce aux passages (principe L).

Il y avait lieu, dans ces conditions, de rechercher si le coli L peut être débarrassé de ce principe lorsqu'on le soumet à l'isolement. Ayant pu, grâce à l'obligeance de M. Lisbonne qui me transmet sa culture, réaliser cette expérience, je constatai que les colonies isolées de coli L (j'en choisis au hasard une demi-douzaine) donnaient par repiquage des cultures qui ne déclenchaient plus la lyse du b. Shiga (1). Cela va sans dire, j'éprouvais en même temps, à cet égard, d'une part les cultures dérivant des colonies isolées, d'autre part la culture primitive repiquée en masse. Après deux ou trois passages, seul l'essai comportant l'intervention de la culture non isolée donnait lieu bientôt à la clarification très manifeste du b. Shiga ; rien de semblable ne s'observait dans les autres. Le lavage des bacilles réalisé par l'isolement avait donc eu pour effet d'éliminer le principe existant hors des microbes dans la culture originelle ; il était légitime de penser que la plupart des individus microbiens peuplant celle-ci ne sont pas lysogènes. Cette conclusion toutefois appelle la réserve déjà exprimée plus haut, à savoir que peut-être il existe des principes trop faibles pour que la technique des passages les mette en évidence ; peut-être donc les microbes en question étaient-ils très faiblement lysogènes. Notons que cette réserve n'est guère compatible avec la théorie du virus : on ne conçoit pas que les microbes isolés puissent contenir un virus incapable de manifester sa présence lorsqu'on le fait agir sur le b. Shiga, tandis que la culture non isolée

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 88, 1923, p. 1211.

déclenche la lyse de ce bacille. Quoi qu'il en soit, j'entretins pendant huit mois, en les repiquant de temps à autre, quatre cultures dérivant des colonies isolées, et les éprouvai au bout de ce délai. Or, je constatai (1) que l'une d'entre elles *Ld* était encore inactive, mais que les trois autres, *La*, *Lb*, *Lc*, avaient récupéré l'aptitude à déclencher la lyse du b. Shiga. Et cette fois, chose remarquable, la technique de l'isolement appliquée à ces cultures ne permit plus d'obtenir des colonies inactives; le pouvoir lysogène y était donc dévolu à la grande majorité des individus microbiens. L'apparition de ce pouvoir dans des cultures qui, à un moment donné, ne le manifestaient pas, me parut constituer un argument décisif contre la théorie du virus.

Vu l'intérêt de ces résultats, je conservai ces cultures et en repris récemment l'étude, après les avoir soumises à de nouveaux isolements. L'une d'elles me permit d'observer un remarquable phénomène de mutation, dont je parlerai plus loin. Je signalerai tout d'abord les propriétés que ces cultures manifestent actuellement, soit qu'on les mette en présence d'autres espèces microbiennes, tel le b. Shiga, soit qu'on les fasse réagir les unes sur les autres.

L'activité lytique des cultures *La*, *Lb*, *Lc* vis-à-vis du b. Shiga est devenue tellement prononcée qu'on la met en évidence sans devoir procéder à des passages. Une gouttelette de culture en bouillon, filtrée ou chauffée à 57°5, que l'on dépose sur la surface d'une gélose ensemencée de b. Shiga, y fait apparaître une trainée de clarification très nette (2). Toutefois, en vue d'obtenir des principes aussi actifs que possible, j'effectuai pour chacune des cultures trois passages en bouillon ensemencé de b. Shiga. On constate ainsi des clarifications très manifestes suivies de la pullulation de germes résistants. J'obtins de la sorte trois principes anti-Shiga, *La*, *Lb*, *Lc*. D'autre part, j'eus soin de réaliser également trois passages sur b. Shiga en mettant en jeu le microbe *Ld* qui paraissait

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 90, janvier 1924, p. 96.

(2) Il convient de signaler que la trainée produite par la culture *La* est formée uniquement de petites taches, tandis que les trainées dues aux cultures *Lb* et *Lc*, offrent un mélange de grandes et de petites taches. Cette différence témoigne de ce que l'individualité des souches microbiennes retentit sur les qualités des principes qu'elles engendrent.

inactif ; dans cette série, le b. Shiga donna des cultures d'aspect normal, sans clarification appréciable ; or, nous allons voir que ces passages, en apparence infructueux, fournirent néanmoins un principe (*Ld*).

En effet, tandis que, déposés sur gélose ensemencée de b. Shiga, les trois principes *La*, *Lb*, *Lc* donnent des traînées transparentes sur tous les points de leur trajet, le liquide *Ld* soumis au même essai, fait apparaître des taches claires très petites et peu nombreuses. Donc le microbe *Ld* qui, éprouvé en bouillon sur le b. Shiga, ne détermine pas de clarification perceptible même au troisième passage, donne un résultat faiblement mais incontestablement positif si on a recours à la technique des traînées ; nous disposons ainsi en réalité de quatre principes. Ensemençons du b. Shiga dans quatre tubes de bouillon respectivement additionnés de chacun d'eux, attendons que les liquides présentent un trouble accentué dû au développement de germes résistants, et repiquons ceux-ci. Nous obtenons ainsi quatre cultures *Sa*, *Sb*, *Sc*, *Sd*, de b. Shiga. Or, si nous recherchons comment elles se comportent vis-à-vis des principes qui leur correspondent (en les ensemencant sur gélose où l'on dépose ensuite une gouttelette du principe en question) nous trouvons qu'elles se montrent réfractaires ; aucune tache claire n'apparaît. Mais une expérience complémentaire fait voir que la puissance des quatre principes est inégale et que corrélativement la résistance des cultures l'est aussi. Aucun des principes ne donne de taches claires sur gélose ensemencée de *Sc* ou de *Sb*. Mais la culture *Sa*, insensible au principe *La*, montre sur la traînée quelques taches claires disséminées si l'on met en jeu le principe *Lc* ou *Lb*. Quant à la culture *Sd*, elle se distingue du b. Shiga normal en ce qu'elle ne donne pas lieu comme lui à de rares petits points clairs lorsqu'on la traite par le faible principe *Ld*. Mais elle montre une traînée continue de clarification lorsqu'elle subit l'action des principes *Lc* et *Lb*, et seulement des taches claires disséminées sous l'influence du principe *La*, lequel, éprouvé sur le b. Shiga normal, donne une traînée claire continue.

Ces résultats mettent en relief une remarquable gradation de la résistance des diverses cultures de b. Shiga comme de la

puissance des divers principes auxquels elles se sont respectivement équilibrées, et l'on aboutit de la sorte à la conclusion que les diverses cultures d'une même espèce coli L ne sont pas équivalentes quant à leur pouvoir lysogène, puisqu'elles déclenchent la production, par le b. Shiga, de principes qui ne sont pas identiques. D'autre part, le b. Shiga, impressionné par l'une de ces cultures, s'élève exactement au degré de résistance voulu pour tolérer le principe que, sous son influence, il élabore (1). On observe d'ailleurs que, plus le principe est puissant, plus pénible et plus lente est la croissance des germes résistants, lesquels, s'il est très énergique, n'atteignent la vitesse normale de multiplication qu'après quelques repiquages. Notons enfin que les résultats ci-dessus consignés corroborent pleinement les considérations développées plus haut quant à la signification, pour l'appréciation des théories qui veulent rendre compte de la lyse, du nombre de taches claires apparues sur gélose. Un principe qui fait apparaître d'innombrables taches lorsqu'on le fait agir sur le b. Shiga normal donne seulement des taches clairsemées s'il rencontre un microbe capable de tolérer sans lyse un principe moins énergique, lequel développe d'ailleurs de nombreuses taches en présence du b. Shiga normal. S'il est en rapport avec la concentration du principe, le nombre de taches l'est aussi avec la réceptivité de la culture.

INFLUENCE D'UNE RACE SUR UNE AUTRE RACE DE MÊME ESPÈCE. — La question se pose de savoir si les diverses cultures de coli L n'exercent pas d'influence l'une sur l'autre et notamment si le B. coli Ld, qui éprouvé sur le b. Shiga se distingue par la faiblesse du principe qu'il élabore, ne se caractériserait pas aussi, corrélativement, par le fait qu'il est peu résistant. Il convient donc de rechercher s'il est sensible aux produits de

(1) Ajoutons encore que si l'on soumet à l'isolement une telle culture de b. Shiga devenu résistant, on obtient des colonies séparées qui sont lysogènes, mais peuvent ne pas l'être avec la même puissance. Ici encore l'individualité microbienne intervient et peut se trahir en outre par l'aspect de la culture en bouillon. Par exemple, une colonie lysogène A pousse en flocons sans troubler le liquide; une colonie B moins active donne un trouble diffus. Chose remarquable, on constate que, si l'on introduit, dans un bouillon ensemencé de b. Shiga normal, le principe élaboré par le microbe A, les résistants qui se développent poussent comme A lui-même, c'est-à-dire en flocons. Il semble qu'un type microbien lysogène de b. Shiga force la culture normale de b. Shiga à devenir identique à lui-même.

ses congénères, par exemple du *B. coli* *Lc*. J'ai donc comparé *Ld* et *Lb* quant à leur comportement vis-à-vis des produits de *Lc*. Un tube de bouillon estensemencé à la fois de *Lc* et de *Lb*, un second tube à la fois de *Lc* et de *Ld*; après trois ou quatre jours, les cultures sont stérilisées à 57°3 ; on introduit vingt gouttes de la première dans un bouillon qu'onensemence de *Lb*; de même un bouillonensemencé de *Ld* reçoit vingt gouttes de la seconde.

De ces deux bouillons, le premier ne montre rien d'anormal, tandis que le trouble promptement apparu dans le second se clarifie visiblement dans la suite; des passages ultérieurs confirment ce résultat. Donc le microbe *Lc* manifeste, vis-à-vis du microbe *Ld*, mais non à l'égard de *Lb*, un pouvoir lysogène très net; la technique des traînées le met également fort bien en évidence. Or, il est hautement vraisemblable que nos diverses variétés de coli *L* dérivent toutes d'un même ancêtre, la culture primitive *L* ayant été elle-même obtenue par Lisbonne et Carrère en repiquant une colonie isolée. On peut donc admettre qu'au cours des générations successives, les descendants d'un même germe se différencient au point que certains d'entre eux deviennent aptes à en lyser d'autres. Et cependant, tous ces types microbiens élaborent du principe; mais ces divers principes n'ont pas la même puissance, et chaque race est, en quelque sorte, à l'unisson de celui qu'elle produit, de façon à pouvoir se développer sans entraves en donnant des cultures dont l'aspect est normal.

ADAPTATION D'UNE RACE AU PRINCIPE D'UNE AUTRE RACE. — Dans cet ordre d'idées, il n'est pas sans intérêt d'étudier l'adaptation de la race *Ld* au principe vis-à-vis duquel elle se montre réceptive et qui provient de la race *Lc*. Comme on peut s'y attendre, d'abondants germes résistants apparaissent bientôt dans le bouillon additionné de ce principe et qu'on aensemencé de *Ld*. Ces résistants transplantés sur gélose y donnent une culture florissante, mais qui, chose remarquable, diffère de la culture normale *Ld* non seulement par l'aspect de la couche microbienne, laquelle est plus opaque, mais aussi par la morphologie que le microscope révèle. Au lieu d'être minces et assez allongés, les microbes sont arrondis, presque sphériques.

ils ressemblent à de très gros Cocci. Si l'on soumet cette culture à l'isolement, toutes les colonies séparées obtenues sont formées de microbes affectant cette forme spéciale. Choisissons l'une d'entre elles, repiquons-la en bouillon que nous stérilisons à 57°5 après quelques jours. Introduisons quelques gouttes de cette culture tuée dans un bouillon que nous ensemençons du microbe normal *Ld*, lequel, comme il vient d'être dit, est un bacille assez allongé. Quand cette nouvelle culture est bien développée, repiquons-la sur gélose. Or, on trouve que les microbes qui poussent sur ce milieu revêtent l'aspect cocciforme particulier ci-dessus signalé. En résumé, le principe produit par *Lc* tend à lyser *Ld*. En devenant résistant, *Ld* subit une modification que l'on peut déceler, car elle retentit sur la morphologie, et qui, transmissible à la descendance, se perpétue même lorsque les microbes sont soumis à l'isolement. De plus, les microbes isolés qu'on repique déversent dans leur milieu de culture des produits qui, ajoutés à la culture normale *Ld*, lui impriment une modification identique à celle qu'ils ont subie eux-mêmes et dont ils gardent trace. On voit clairement ainsi l'influence directrice que les principes peuvent exercer sur l'évolution d'une espèce microbienne.

Mais ces microbes cocciformes, devenus résistants à l'égard du principe venant de *Lc*, fabriquent-ils eux-même un véritable principe? Si l'on s'inspire de la théorie du virus, on devrait plutôt s'attendre à ce que cette question reçoive une réponse négative. Car, s'ils sont devenus résistants, il est à présumer qu'ils n'hébergent plus aussi volontiers le virus. Pour le savoir, il convient de prendre comme réactif le b. Shiga ensemencé sur gélose. Recourons à la technique des trainées pour éprouver sur ce bacille les cultures en bouillon (stérilisées à 57°5) d'une part du microbe *Ld*, d'autre part du microbe cocciforme résultant, comme il vient d'être dit, de la métamorphose de *Ld*. Nous savons déjà que *Ld* normal ne fait apparaître sur le b. Shiga que quelques rares petits points de clarification. Or, on trouve que le microbe cocciforme donne une trainée claire continue bien tranchée. Une telle trainée fort nette est également celle que fait apparaître, sur le b. Shiga, le principe *Lc* qui, précisément, a provoqué le développement du microbe cocciforme aux dépens de la culture normale *Ld*.

En somme, si l'on voulait interpréter ces résultats en restant fidèle à la théorie du virus, il faudrait accepter que les divers types de microbes appartenant à l'espèce coli L, quoique poussant avec luxuriance, sont tous parasités; que les virus dont ils sont porteurs sont de virulence inégale, le plus faible existant chez le type Ld et ne s'y exaltant pas, bien que ce type Ld soit sûrement le plus réceptif (1); que ce type Ld, qui ne réussit pas à se libérer de son virus faible, dont, au surplus, il ne souffre pas visiblement, est néanmoins capable (au prix d'une modification que la morphologie trahit) de s'adapter promptement à un virus plus fort; qu'en dépit de cette faculté d'accommodation, il ne parvient pas davantage à se débarrasser de ce nouveau virus, lequel semble comme le précédent envahir chaque individu microbien, puisque l'isolement permet régulièrement l'obtention de colonies lysogènes.

En réalité, il paraît beaucoup plus raisonnable d'admettre que l'élaboration du principe est un acte de physiologie microbienne normale; que toutefois les principes sont normalement contre-balancés de telle sorte que la culture puisse être florissante; que d'ailleurs on conçoit qu'un pareil équilibre puisse se dérégler sous certaines influences; que la puissance des principes varie selon les races qui les élaborent; qu'une race équilibrée à un principe de faible énergie qu'elle produit ne l'est pas à un principe plus fort venant d'une autre race et doit par conséquent se modifier lorsqu'on la porte au contact de ce nouveau principe, de façon à se mettre en quelque sorte à son niveau tout en le reproduisant.

TRANSFORMATION SPONTANÉE DU B. COLI. — Il me reste à signaler une modification réellement frappante, spontanée et très persistante, que l'une des cultures de B. coli L présenta à un moment donné. J'entretenais ces cultures en bouillon et les repiquais tous les mois environ. Parfois, je réensemenciais, non seulement la dernière culture, mais aussi la précédente. Or, dans ces conditions, l'une des races (Lc) permit d'obtenir deux cultures très différentes. Le repiquage de la culture la plus

(1) Nous venons de voir, en effet, que ce type est à la fois celui qui manifeste, vis-à-vis du b. Shiga, l'activité lytique la plus faible et celui qui se montre le plus sensible au principe engendré par d'autres types de coli L.

récente, âgée de trente-cinq jours, fournit une culture normale très trouble qui, reportée sur gélose, donna la pullulation luxuriante habituelle du *B. coli* avec la morphologie classique en bâtonnets assez courts. Mais le bouillon ensemencé de la culture antérieure datant de deux mois ne se troubla que très légèrement; transporté sur gélose, il n'y donna qu'une couche microbienne très discrète, formée d'éléments ne ressemblant pas au *B. coli*. Pour la plupart, ces microbes se présentaient sous forme de filaments très longs, flexueux, gonflés en certains points; d'autres, plus courts, étaient très épais. Cet aspect anormal se maintint obstinément à travers plusieurs repiquages jusque dans les cultures actuelles, qu'un observateur non prévenu ne songerait aucunement à identifier au *B. coli*. Les autres races de *B. coli* L, repiquées après conservation même très prolongée en bouillon, ne me fournirent pas ce type aberrant.

Il est hautement probable, sinon certain, que cette transformation irréversible est en rapport avec le pouvoir lysogène. En effet, ayant soumis cette culture modifiée à la technique de l'isolement, j'obtins des colonies séparées dont les unes étaient minces, très plates et sèches, les autres étant au contraire sail-lantes, glaireuses, coulantes, ressemblant à s'y méprendre aux colonies mucoïdes qu'on obtient fréquemment lorsqu'on repique sur gélose une suspension de *B. coli* additionnée d'un principe énergique. Selon toute vraisemblance, il s'agit ici de l'apparition spontanée du type muqueux sous l'influence prolongée du principe appartenant en propre à la variété microbienne considérée. Au surplus, les cultures dérivant de ces colonies isolées se montraient très nettement douées du pouvoir lysogène vis-à-vis tant du *B. Shiga* que de la race *B. coli* Ld.

Ainsi s'affermirait encore la notion, sur laquelle j'ai cru devoir beaucoup insister dans les pages précédentes, que le principe lytique intervient dans l'évolution des cultures; sans doute assume-t-il un rôle décisif dans les réactions mutuelles qui s'engagent entre les individus microbiens et qui aboutissent à la prédominance de certains types; il est un facteur d'antagonisme, mais aussi d'équilibre. C'est ce qui fait essentiellement l'intérêt de son étude, dont l'importance apparaîtrait singulièrement grandie si l'en surprenait un jour, dans le monde

des êtres plus élevés, le jeu de principes analogues, capables d'intervenir puissamment dans les relations que contractent les diverses cellules d'un même organisme et de contribuer de la sorte à l'harmonie du fonctionnement physiologique, tout en étant peut-être susceptibles d'engendrer parfois, par un fâcheux dérèglement, de funestes compétitions entre les éléments cellulaires.

LA RÉACTION DE FIXATION APPLIQUÉE AU DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE DES CARNIVORES DOMESTIQUES

Par Ach. URBAIN.

Le diagnostic de la tuberculose des carnivores domestiques est parfois difficile. En effet, contrairement à ce que l'on constate chez les autres espèces animales, la tuberculine employée par la voie sous-cutanée ne donne de résultats positifs que dans 60 à 65 p. 100 des cas de tuberculose canine, et ce pourcentage est encore moins élevé chez le chat tuberculeux où il n'atteint que 27 à 30 p. 100 (Cadiot, Roussel, Douville, Vallée et Panisset, Verge, Grobon, etc.).

Cependant, les carnivores domestiques tuberculeux, en raison de leur contact fréquent avec l'homme, peuvent devenir contagieux pour lui : 1° Par leur jetage nasal dans le cas de lésions pulmonaires; 2° par le pus des ulcères cutanés; 3° par leurs excréments et leur urine, dans les formes intestinales et rénales. Tous ces produits pathologiques renfermant fréquemment, et quelquefois en abondance, des bacilles de Koch (Cadiot, Petit, Douville, Sendrail, Lasserre et Lesbouryès, Lesbouryès, Panisset et Verge, Grobon, etc.).

Le chien et le chat tuberculeux représentent donc un grave danger pour leur entourage, et l'utilité de rechercher un moyen de diagnostic rapide et précoce s'impose. C'est dans ce but que certains auteurs ont appliqué, ces deux dernières années, la réaction de déviation du complément au diagnostic de la tuberculose des carnivores domestiques.

Verge (1923) a utilisé, le premier, cette méthode sérologique. Avec le sérum de neuf chiens tuberculeux, il a obtenu huit réactions positives et une négative; celui de 13 chiens indemnes de toute infection bacillaire n'a pas fixé le complément, en présence des antigènes spécifiques utilisés : antigène

méthyllique de Boquet et Nègre et antigène à l'œuf de Besredka. La réaction s'est montrée négative chez un chat tuberculeux, atteint de tuberculose cutanée et chez un chat sain.

Tous les animaux furent sacrifiés par la suite, et les résultats de l'autopsie confirmèrent en tous points ceux de la réaction de fixation.

Verge a montré, en outre, que l'injection sous-cutanée de tuberculine ne provoque jamais la formation d'anticorps spécifiques chez le chien sain, quelle que soit l'époque envisagée après la tuberculinisation. Par contre, l'injection de tuberculine effectuée chez un chien tuberculeux élève nettement le taux de ses anticorps.

Pour cet auteur, qu'un chien suspect ait été ou non tuberculiné, une réaction de fixation positive garde toute sa valeur et implique toujours une tuberculose en évolution.

Kolda (1924) a confirmé ces résultats. La déviation du complément effectuée avec l'antigène de Besredka lui a fourni des indications précieuses pour le diagnostic de la tuberculose canine, alors que tout signe clinique faisait encore défaut.

J'ai examiné seul, ou avec la collaboration de Brocq-Rousseu et Cauchemez ou de Grobon, 70 sérums de chiens sains, dont 16 d'entre eux avaient présenté une réaction négative à la tuberculine, 48 sérums de chiens et 3 sérums de chats reconnus tuberculeux à l'autopsie, et l'exsudat pleurétique provenant de 5 cas de pleurésie tuberculeuse (1).

Les prélèvements de sang ont été faits, pour le chien, sur l'animal vivant avant l'injection de tuberculine, lorsque celle-ci était pratiquée et, pour le chat, immédiatement après l'autopsie. Tous les sérums ont été chauffés à 60°, température reconnue nécessaire pour faire disparaître les substances anti-complémentaires, si fréquentes dans le sérum des chiens.

Les exsudats pleurétiques ont toujours été débarrassés par centrifugation des bacilles et des éléments cellulaires.

J'ai employé, pour la recherche des anticorps tuberculeux, le procédé et l'antigène de Besredka.

Voici quelques-unes des observations que j'ai relevées :

(1) Quelques-uns des sérums et deux des exsudats examinés m'ont été envoyés par mes confrères Sellier et Girard que je remercie de leur obligeance.

PREMIÈRE OBSERVATION. — Chien setter-gordon, un an et demi, pleurésie double. La thoracentèse donne écoulement à un liquide séro-sanguinolent; l'examen bactériologique de ce liquide montre des bacilles de Koch. La réaction de fixation, effectuée simultanément sur l'exsudat et sur le sérum, fut très positive. L'épreuve à la tuberculine est douteuse (hyperthermie, 0°09).

DEUXIÈME OBSERVATION. — Chien danois, trois ans, pleuro-pneumonie; l'examen de son sérum vis-à-vis de l'antigène à l'œuf, donne une réaction très positive. La réaction à la tuberculine est négative. A l'autopsie : lésions typiques de tuberculose pulmonaire renfermant des bacilles tuberculeux.

TROISIÈME OBSERVATION. — Chien loulou, trois ans, ostéo-arthrite hypertrophiante aux membres postérieurs, coexistant avec des lésions pulmonaires suspectes. Le sérum fixe fortement le complément en présence de l'antigène tuberculeux. L'épreuve à la tuberculine est positive.

QUATRIÈME OBSERVATION. — Chien fox, six mois, atteint d'une entérite rebelle à tous les traitements. La réaction de fixation est très positive. A l'autopsie, on trouve des adénites des ganglions mésentériques. Sur la coupe d'un de ces ganglions, le produit de raclage montre un grand nombre de bacilles de Koch.

CINQUIÈME OBSERVATION. — Chien danois, deux ans, tuberculose pulmonaire. La réaction de fixation est positive. L'autopsie montre des tubercules sur le poumon et le foie. Une injection sous-cutanée de tuberculine reste sans résultat.

SIXIÈME OBSERVATION. — Chien fox, trois ans, pleurésie séro-fibrineuse. La réaction de déviation du complément effectuée simultanément avec le sérum et l'exsudat pleurétique est très positive. La tuberculine utilisée par la voie hypodermique donne un résultat négatif.

Le sérum de 42 autres chiens, présentant à l'autopsie des lésions du poumon et assez souvent du foie, a fixé dans tous les cas fortement l'alexine en présence de l'antigène de Besredka.

Le taux des anticorps des sérums des chiens tuberculeux, titré par la méthode de Calmette et Massol, a varié de 15 à 50 unités. Cependant dans un cas, j'ai enregistré 250 unités et dans un autre 300.

Le sérum de 3 chats tuberculeux a fourni une réaction faiblement positive (chat atteint d'un ulcère de la face avec bacille tuberculeux dans le pus) et deux réactions positives (chats présentant des lésions tuberculeuses du poumon).

Les 5 exsudats pleurétiques, examinés en présence de l'anti-

gène de Besredka, ont donné une réaction positive et quatre très positives.

En sorte que les 56 examens de sérums ou d'exsudats pleurétiques, provenant de carnivores domestiques tuberculeux, ont fourni 56 réactions de fixation positives (100 p. 100).

Quant au sérum des 70 chiens sains, ils ont donné les réactions suivantes :

68 réactions négatives ou 97,13 p. 100 (les 16 chiens tuberculés rentrent dans cette catégorie).

2 réactions positives ou 2,85 p. 100.

Enfin, 37 des chiens tuberculeux sur 48 examinés ont été soumis à l'épreuve de la tuberculine, utilisée par la voie sous-cutanée; 22 ont présenté une réaction positive (62,1 p. 100), 7 des réactions douteuses (18,9 p. 100) et 8, une réaction négative (20 p. 100).

Le pourcentage des résultats positifs fourni par cette méthode de diagnostic est donc très inférieur à celui obtenu avec la réaction de fixation.

CONCLUSIONS.

1° Le sérum des carnivores domestiques atteints de tuberculose, examinés vis-à-vis de l'antigène de Besredka, fixe l'alexine dans 100 p. 100 des cas;

2° Le sérum des chiens, macroscopiquement indemnes de tuberculose, donne une réaction de fixation négative dans 97 p. 100 des cas;

3° Chez les carnivores domestiques qui réagissent mal à la tuberculine, la réaction de fixation peut être considérée comme un très bon procédé de diagnostic de la tuberculose.

BIBLIOGRAPHIE

- BROcq-ROUSSEU, Ach, URBAIN et CAUCHEMEZ, La réaction de fixation du complément appliquée au diagnostic de la tuberculose du chien. *C. R. Soc. Biol.*, 92, n° 7, 1925, p. 471.
- CADIOT, La tuberculose du chien, Paris, 1893. Sur la tuberculose du chien. Etude de pathologie et de clinique, Paris, 1899. Sur la tuberculose des carnivores domestiques. *Bulletin de l'Académie de Médecine*,

- 29 juillet 1913; *Recueil de méd. vétér.*, **90**, septembre et 15 octobre 1913, p. 566 et 622.
- CALMETTE (A). *L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux*, Masson, Paris, 1922.
- DOUVILLE, De la tuberculose des carnivores domestiques, chien et chat. Recherches sur son diagnostic clinique. *Rev. génér. méd. vétér.*, 1914, p. 473 et 537.
- GROBON, Contribution à l'étude de la tuberculose des carnivores domestiques. *Thèse de doctorat vétérinaire*, Toulouse, 1925.
- KOLDA, O tuberkulose psa. *Klinické spisy vysoké školy zverolirarske*, Brno, Tchéco-Slovaquie, **1**, fasc. 1^{er} octobre 1924.
- LESBOUYRIÈS, De la réaction à la tuberculine chez le chien *Bull. Soc. centr. méd. vétér.*, **100**, 29 février 1924, p. 124.
- LESBOUYRIÈS, PANISSET et VERGE, Sur l'abondance des bacilles de Koch dans la tuberculose canine. *C. R. Soc. Biol.*, **89**, 15 décembre 1923, p. 1190.
- PANISSET et VERGE, L'ostéo-arthropathie hypertrophiante d'origine tuberculeuse chez le chien. *Rev. génér. de méd. vétér.*, **33**, 15 avril 1924, p. 165.
- PETIT, Sur les rapports qui existent entre la tuberculose de l'homme et celle des carnassiers domestiques. *Congrès de la Tuberculose*, 1905, p. 196. Les formes ouvertes de la tuberculose chez les carnivores domestiques. *Recueil méd. vétér.*, **90**, n° 23, 15 décembre 1919, p. 674. Sur le danger familial de la tuberculose du chien et du chat. *Bull. et Mém. Soc. méd. de Paris*, n° 12, juin 1924, p. 439.
- ROUSSEL, La tuberculose des petits animaux et les défaillances de la tuberculine. *Bulletin Soc. centr. méd. vétér.*, séance du 6 mai 1909, p. 179. Sur un nouveau cas de défaillance de la tuberculine chez le chien. Intradermo-réaction et injection sous-cutanée. *Ibid.*, 1909, p. 561.
- SENDRAIL, LASSERRE et LESBOUYRIÈS, De la tuberculose du chien. Observations cliniques, diagnostic par la tuberculine. *Rev. vétér.*, 1^{er} novembre et 1^{er} décembre 1913, p. 641 et 721. De la tuberculose du chien. Les réactions focales à la tuberculine. *Ibid.*, **75**, mai 1923.
- URBAIN. *La réaction de fixation dans la tuberculose*, Masson, Paris, 1925.
- URBAIN et GROBON, La réaction de déviation du complément appliquée au diagnostic de la tuberculose des carnivores. *Revue de la Tuberculose*, **6**, 1925, p. 393.
- VALLÉE et PANISSET. *Les tuberculoses animales*, Paris, 1920.
- VERGE, Antigène paratuberculeux et réaction de fixation dans la tuberculose des animaux domestiques. *C. R. Soc. Biol.*, **88**, janvier 1923, p. 185. La réaction de fixation dans le diagnostic de la tuberculose des carnivores domestiques. *Ibid.*, 10 février 1923, p. 325. Réaction de fixation et injection de tuberculine chez le chien. *Ibid.*, 3 mars 1923, p. 562. Le diagnostic de la tuberculose des animaux domestiques par la méthode de déviation du complément. *Rec. méd. vétér.*, 25 mars 1923; p. 140. Le diagnostic de la tuberculose des carnivores domestiques. *Ibid.*, 15 août 1924, p. 449.

LE BACILLE DE PFEIFFER, AGENT DE MÉNINGITE CÉRÉBRO-SPINALE

Par Eugène URECH, ancien chef de laboratoire

et

WALTER SCHNYDER,

ancien assistant de l'Institut d'hygiène.

Institut d'Hygiène de l'Université de Zurich
(Directeur : Professeur Dr W. SILBERSCHMIDT).

Les méningites dues au bacille de *Pfeiffer* ne sont pas très rares et cependant aucun symptôme clinique ne permet de les différencier, à coup sûr, des autres méningites aiguës ou subaiguës. Le diagnostic repose uniquement sur les recherches de laboratoire, puisque seul l'examen du liquide de ponction lombaire permet de déterminer l'agent pathogène.

Dans l'espace d'une année environ, nous avons examiné sept cas de méningite pfeifférienne survenus chez des enfants de neuf (J 36), onze (J 31), vingt (J 75), vingt-quatre (J 95), vingt-quatre (J 81), trente mois (J 39) et quatre ans (J 85). Seul ce dernier malade n'a pas succombé, mais une séquelle très grave, une surdité bilatérale, a suivi l'affection aiguë (1).

Le pronostic est donc sombre, même si l'on considère la statistique la plus importante qui ait été publiée, celle de *Rivers* (2), avec deux cents cas environ et une mortalité de 97 p. 100 pour les enfants âgés de moins de deux ans, de 71 p. 100 au delà de la deuxième année.

Il est bien compréhensible dès lors que l'on se soit efforcé de préciser les caractères de cet agent pathogène, de rechercher s'il est vraiment le même que le bacille de Pfeiffer trouvé (seul ou plus souvent en association microbienne) dans les catarrhes

(1) SCHNYDER et URECH. *Schweiz. med. Woch.*, 1923.

(2) RIVERS. *Amer. Journ. Dis. of Child*, 1922, p. 102.

du rhino-pharynx, les pneumonies de nature diverse, les cavernes tuberculeuses, etc.

L'essai le plus connu fait dans cette voie date de 1909, où Cohen (1) (2) décrivit le « bacille de la méningite cérébro-spinale septicémique », bacille en tout analogue à celui de Pfeiffer, mais beaucoup plus virulent que lui.

Dans les pages qui suivent, nous chercherons à déterminer si cette différenciation se justifie, en comparant nos souches de méningite avec le bacille de Pfeiffer isolé des organes respiratoires. Nous examinerons successivement les caractères morphologiques et culturels du micro-organisme, ses réactions sérologiques et sa virulence pour les animaux de laboratoire.

MORPHOLOGIE. — A peine louche au début, le liquide céphalo-rachidien se trouble bientôt et entoure finalement la moelle épinière d'une gaine purulente continue. Ce pus est inégalement réparti dans la boîte crânienne : abondant à la base du cerveau, il ne forme que des traînées irrégulières dans la région des hémisphères.

Dans les frottis, le bacille apparaît au milieu d'un grand nombre de leucocytes polynucléés. Il est tantôt extra, tantôt intracellulaire; la disposition, dans les cellules, n'a rien de caractéristique et le nombre de bacilles est, en général, abondant. Ce micro-organisme est fin, souvent en diplocoque; sa grandeur varie beaucoup : à côté d'éléments de petite taille, absolument analogues au bacille de Pfeiffer trouvé dans les crachats, il en est de plus longs et les formes filamenteuses ne sont pas rares.

Ces divers aspects n'autorisent pas une classification en groupes morphologiques. Il est impossible, en particulier, d'admettre, pour les souches étudiées, la subdivision en 4 classes proposée par Levinthal (3) (4). [1, coccobacille, court, fin, très régulier; 2, formes un peu allongées, parmi lesquelles se retrouvent déjà quelques éléments filamenteux; 3, pléomorphisme très accentué, les formes allongées prédominant;

(1) COHEN. Ces *Annales*, **23**, 1909, p. 273.

(2) COHEN et FITZGERALD. *Centralb. f. Bakter., Orig.*, 1910, p. 464.

(3) LEVINTHAL et FERNBACH. *Zeitschr. f. Hyg.*, **96**, 1922, p. 456.

(4) LEVINTHAL. *Centralb. f. Bakt., Orig.*, **89**, p. 132.

4, caractères morphologiques analogues à ceux du troisième groupe, mais le bacille jouit de propriétés hémolytiques.] Cela s'applique aussi bien aux bacilles provenant de méningite qu'à ceux isolés de crachats ou d'autopsies.

Sans doute, un premier examen du frottis direct ou d'une culture sur agar-sang de Levinthal révèle parfois uniquement (ou presque uniquement) des bacilles fins et courts, en diplocoques, tandis que d'autres fois les formes allongées sont seules présentes. Mais les ponctions ultérieures, comme aussi les cultures subséquentes, ne conservent pas nécessairement ces caractères. Les variations sont fréquentes : tantôt les éléments allongés prédominent, tantôt les bacilles courts sont en majorité et dans une « colonie géante » toutes les formes peuvent être retrouvées. Il est même possible d'aller plus loin dans cette démonstration de la variabilité morphologique du bacille de Pfeiffer). D'une colonie isolée, on inocule un tube d'agar. Vingt heures plus tard, la culture est émulsionnée dans de l'eau physiologique et injectée, par moitié, dans le cerveau de deux lapins. Ceux-ci meurent dix-huit à vingt-quatre heures après : la culture du sang cardiaque donne des bacilles qui ne sont pas identiques pour les deux animaux.

L'agar et le bouillon de Levinthal permettent de *cultiver* facilement le bacille de Pfeiffer. Aucune différence n'a pu être constatée, à ce point de vue, entre les bacilles agents de méningite et ceux isolés de produits d'expectoration. Tous deux sont strictement hémoglobino-philes et ne peuvent être cultivés sur la gélose ordinaire qu'en présence de bactéries-nourrices. Les colonies géantes se développent également bien et également souvent, quelle que soit l'origine du micro-organisme.

La *virulence* du bacille de Pfeiffer pour les animaux de laboratoire a été très discutée (1). En fait, quelques précautions sont de rigueur pour la mettre en évidence. Les cobayes jeunes, de 120 à 180 grammes, se prêtent particulièrement bien à ces essais ; l'inoculation doit être faite dans le péritoine. Même en respectant ces données, les quantités de bacilles qu'il est nécessaire d'injecter, pour tuer un cobaye, varient énormément d'une souche à l'autre. La dose la plus forte que nous ayons dû uti-

(1) KNOHR. *Weichardts Ergeb. d. Hyg., Bakter., etc.*, 1924, p. 350

liser pour provoquer, dès la première culture, la mort avec un bacille isolé d'une méningite est de deux à trois cultures (de vingt-quatre heures) sur agar-sang ; la plus minime de un tiers de culture. Jamais nous n'avons trouvé de souches aussi actives que celles décrites par Gosio (1) (2) au cours de la récente pandémie grippale.

Cette virulence peut d'ailleurs être nettement augmentée par culture et passage sur l'animal. C'est ainsi que la souche peu pathogène dont il a été fait mention tout à l'heure a été exaltée de façon telle qu'un tiers de culture tue le cobaye de 200 grammes. Cette virulence n'a pas diminué après 20 à 25 réinoculations sur agar-sang.

La mort du cobaye survient dans l'espace de douze à vingt-quatre heures. Les constatations faites à l'autopsie sont les suivantes : le tissu sous-cutané est légèrement œdématié ; la cavité péritonéale, fortement injectée, contient un exsudat séro-purulent, riche en bacilles ; les capsules surrénales sont rouges ; la rate demeure petite ; les poumons présentent fréquemment des foyers hémorragiques ; les vaisseaux cérébraux sont distendus, les méninges brillantes, de petites hémorragies sillonnent la masse cérébrale. Les cultures de la rate, du foie, des reins, du cerveau et du sang cardiaque donnent, avec une grande régularité, des colonies de bacilles de Pfeiffer, souvent très abondantes.

Il a été longtemps d'usage, à la suite des travaux de Pfeiffer et de son école, d'admettre que le bacille tue par intoxication. Dans nos expériences, la dose mortelle, avec des bacilles vivants, est deux à trois fois plus petite qu'avec des bacilles tués par la chaleur ou par l'éther. Le résultat des cultures permet d'admettre une septicémie, après injection intrapéritonéale, mais les constatations faites à l'autopsie sont analogues, que l'on ait inoculé des bacilles vivants ou des bacilles tués.

Si la dose inoculée est inférieure, mais voisine de la dose mortelle, l'animal paraît presque toujours gravement malade vingt-quatre heures après l'injection. Il guérit rapidement et jamais nous n'avons constaté d'affection chronique survenue après l'injection intrapéritonéale du bacille de Pfeiffer chez le cobaye.

(1) GOSIO, *Zeitsch. f. Hyg. u. Infekt.*, 99, p. 314.

(2) LIVERRATO, *Pr. Médic.*, 1922, p. 500.

Les animaux dont le poids dépasse 200 grammes ne se prêtent pas aussi bien à l'expérience. Seules les souches virulentes peuvent les tuer. L'inoculation sous-cutanée échoue en général; l'injection intraveineuse (veine jugulaire) donne des résultats plutôt inférieurs à l'injection intrapéritonéale.

Les constatations faites chez les souris sont analogues.

Chez le lapin, l'inoculation sous-cutanée n'a eu de succès dans aucune de nos tentatives. L'injection intraveineuse ou intrapéritonéale ne réussit que rarement et avec de très fortes doses de bacilles.

Une voie d'inoculation s'est révélée particulièrement sensible chez le lapin et chez le cobaye : la voie intracérébrale. Cantani (1) a démontré, en 1896 déjà, que des doses de bacilles de Pfeiffer, absolument inoffensives lorsqu'elles sont administrées par voie intraveineuse, deviennent mortelles si elles sont portées dans le cerveau.

Nos expériences ont permis des constatations analogues. Pour les souches étudiées à ce point de vue spécial, la différence entre les doses qui provoquent la mort par l'une ou l'autre voie d'inoculation est frappante.

En voici un exemple :

2 lapins de 2.000 grammes reçoivent :

a) 1 culture $1/2$ (de vingt-quatre heures) bacille de Pfeiffer J 31, par injection intraveineuse;

b) $1/4$ culture (de vingt-quatre heures) bacille de Pfeiffer J 31, par injection intracérébrale.

(Trépanation, injection dans la partie antérieure du cerveau, à 2-3 millimètres de la ligne médiane.)

Aucune réaction n'a été observée chez le premier animal; le deuxième est mort dans la nuit suivante. A l'autopsie, le cerveau est très hyperémié, de nombreux petits foyers hémorragiques se dessinent dans les deux hémisphères et spécialement à la base. Les autres symptômes anatomo-pathologiques sont analogues à ceux notés chez le cobaye inoculé dans le péritoine, avec cette différence que l'exsudat péritonéal fait défaut.

Les cultures du sang prélevé par ponction du cœur, les cultures de cerveau, des reins, du foie donnent des bacilles de

(1) CANTANI. *Zeitschr. f. Hyg.*, 23, 1896, p. 265.

Pfeiffer à l'état de pureté. Sur ce point, nos observations ne concordent pas avec celles de Cantani qui n'a jamais trouvé, au cours d'une nombreuse série d'examen, de culture positive.

Les résultats ne sont d'ailleurs pas toujours identiques, même chez des animaux apparemment semblables entre eux.

2 lapins de 2.000 grammes reçoivent, par voie intracérébrale :

a) 1/2-1 anse bacilles de Pfeiffer J31, dans 0 c. c. 4 d'eau physiologique;

b) 1/2 anse bacilles de Pfeiffer J31, dans 0 c. c. 4 d'eau physiologique.

Vingt-quatre heures après, le premier animal présente une dyspnée très accusée, une paralysie presque complète du train postérieur, des contractions spasmodiques généralisées. Le lendemain, la dyspnée régresse; elle disparaît le troisième jour, tandis que le poids tombe à 1.700 grammes. Le quatrième jour, l'animal mange, la paralysie diminue peu à peu; trois semaines plus tard subsiste encore une parésie du train postérieur.

Le deuxième lapin présente une légère dyspnée dix-huit heures après la trépanation. Elle s'accroît, mais, à la 24^e heure, cet animal paraît franchement moins malade que le premier. Dès la 27^e heure, l'état empire; l'animal est couché sur le côté, presque incapable d'aucun mouvement. Il meurt dans la nuit, soit trente à trente-six heures après la trépanation.

A l'autopsie, les constatations sont les mêmes que celles rapportées précédemment.

Dans deux cas, chez des cobayes, les phénomènes aigus du premier jour se sont si bien amendés par la suite que les animaux paraissaient presque guéris une semaine après la trépanation. Vers le douzième et le quatorzième jour, ils refusent toute nourriture, présentent de la faiblesse des pattes et meurent au seizième et au dix-huitième jour, après avoir accusé une très forte dyspnée.

L'examen microscopique du cerveau a révélé dans ces deux cas une méningite purulente; le bacille de Pfeiffer a été trouvé à l'état de pureté dans les cultures inoculées avec un fragment de substance cérébrale.

Le matériel prélevé au lit du malade ou à l'autopsie est d'ailleurs virulent aussi.

2 cobayes de 180 grammes reçoivent, dans la cavité péritonéale, 7 et 2 c. c. $1/2$ de liquide céphalo-rachidien à peine purulent recueilli, dans le cas J 81, par ponction lombaire, au quatrième jour de la maladie. Le deuxième cobaye ne présente aucun symptôme pathologique, tandis que le premier meurt en moins d'une journée (culture pure de bacilles de Pfeiffer dans le sang).

Du liquide cérébro-spinal fortement purulent est prélevé aseptiquement à l'autopsie des malades J 75 et J 81. On s'en sert pour inoculer chaque fois 2 lapins, après trépanation (0 c. c. 3 de pus du cas J 75 pour des lapins de 1.800 grammes, 0 c. c. 2 dans le cas J 81 pour des lapins de 1.200 grammes). Ces 4 animaux meurent dans la nuit.

Les constatations anatomo-pathologiques sont les mêmes que précédemment (cultures positives : cerveau, foie, rein, sang du cœur).

Une souris inoculée dans l'abdomen avec 0 c. c. 9 de ce même liquide J 75 est trouvée morte le matin du jour qui suit l'injection. Hémoculture positive.

A diverses reprises, nous avons insisté sur le résultat positif que donnent les cultures des différents organes à l'autopsie des animaux d'expérience, qu'ils soient inoculés par voie intrapéritonéale ou intracérébrale.

Plaçons en regard les constatations faites chez les malades J 75 et J 81.

Chez tous deux, le liquide céphalo-rachidien a été examiné quatre fois durant la maladie. Les frottis directs et les cultures ont toujours permis de retrouver le bacille de Pfeiffer et lui seul. A l'autopsie du cas J 75, la culture du pus prélevé : *a*) à la base du cerveau ; *b*) autour de la moelle épinière ; *c*) dans le ventricule latéral gauche a donné les mêmes résultats. Le bacille a été retrouvé, en outre, en culture pure : *d e*) dans le sang du cœur et du sinus latéral droit ; *f g*) dans la rate et le foie.

Dans les cultures des sécrétions nasales, pharyngées et pul-

monaires on a reconnu, à côté d'autres micro-organismes, un bacille fin, ne prenant pas le Gram, analogue par sa forme et sa grandeur au bacille isolé par hémoculture. Ce micro-organisme n'a pu être isolé en culture pure.

Dans le deuxième cas (J 81), d'origine otique vraisemblablement, 4 hémocultures (dont 3 faites au cours de la maladie et la dernière une heure après la mort) sont demeurées stériles. Les examens faits à l'autopsie sont résumés dans le tableau suivant :

MATÉRIEL	FROTIS DIRECT	CULTURE
Pus prélevé à la base du cerveau.	Bâtonnets grêles, Gram négatif	Bacille de Pfeiffer.
Pus du ventricule latéral droit	Bâtonnets grêles, Gram négatif.	Bacille de Pfeiffer.
Pus de la moelle épinière.	Bâtonnets grêles, Gram négatif.	Bacille de Pfeiffer.
Pus de l'oreille moyenne.	Bâtonnets grêles, Gram négatif et diplocoques Gram +, parfois en chaînettes.	Bacille de Pfeiffer et streptocoque muqueux.
Sécrétion nasale.	Bâtonnets courts, Gram +; bâtonnets grêles, Gram -; coques en amas, Gram +.	Bacille du groupe pseudodiphtérique; bacille de Pfeiffer; coques en amas.
Poumons.	Quelques pneumocoques.	Pneumocoques; bacille de Pfeiffer; coques en amas ne liquéfiant pas la gélatine.
Sang cardiaque.		Quelques colonies de colibacille.
Rate.		Colibacille.
Foie.		Colibacille.

La septicémie ne survient donc pas dans tous les cas, et si diverses constatations cliniques (abcès articulaires, endocardites, hémocultures, etc.) démontrent que le bacille peut pénétrer dans le torrent circulatoire et créer des métastases, il n'est pas encore établi qu'il s'y multiplie activement. Rivers (1),

(1) RIVERS. *Loc. cit.*

TABLEAU I.

Souches	J 31						J 64					
	1	2	3	4	Sérum de lapin normal	Sérum de lapin normal	1	2	3	4	Sérum de lapin normal	Sérum antityphique
SÉRUMS.												
1/20	+	+	+	±	—	—	±	—	—	—	—	—
1/50	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
1/100	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1/200	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1/400	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1/800	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1/1.000	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1/2.000	±	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Contrôle	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Dilutions du sérum.

+, agglutination totale; ±, agglutination partielle; ±, agglutination presque nulle; —, pas d'agglutination.
 J 31, bacille provenant d'une méningite.
 J 64, bacille provenant d'un catarhe du rhino-pharynx.
 Sérums 1 et 2, lapins injectés avec souche J 31 (méningite).
 Sérum 3, lapins injectés avec souche J 95 (méningite).
 Sérum 4, sérum polyvalent (ancien).

sur 23 cas personnels, a trouvé 8 fois une hémoculture positive.

Chez l'animal, l'expérience enseigne que cette septicémie est fréquente. Il reste à établir dans quelles circonstances elle se développe, et si elle n'est pas simplement un phénomène agonique.

*
* * *

Les réactions sérologiques ont pris une grande place dans l'étude du bacille de Pfeiffer au cours de la dernière pandémie grippale ; elles n'ont donné que des résultats très partiels.

Comme Bordet et Gengou l'ont démontré, le bacille possède des propriétés antihémolytiques qui enlèvent à la méthode de la déviation du complément une grande partie de sa valeur. Il n'est pas rare que des sérums normaux (d'homme, de lapin) fixent le complément en présence de bacilles de Pfeiffer. C'est pourquoi nous ne tiendrons aucun compte de cette méthode bien qu'elle nous ait fourni, de temps à autre, quelques renseignements utiles dans certains cas de méningite.

TABLEAU II. — **Sérum 1.**

DILUTION du sérum	J 31	J 75	J 81	J 19	J 15	J 18	J 20	J 25	J 39
1/50 . .	+	—	—	+	+	+	+	—	+
1/100 . .	+	—	—	+	+	+	+	—	+
1/200 . .	+	—	—	+	+	+	±	—	+
1/500 . .	+	—	—	+	÷	±	÷	—	+
1/1.000 . .	+	—	—	±	—	÷	—	—	±
1/2.000 . .	±	—	—	—	—	—	—	—	—
Contrôle . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—

J 31, J 75, J 81, J 19, méningites.
J 15, J 18, J 20, J 25, J 39, bacilles de Pfeiffer isolés de produits d'expectoration.
Sérum 1, lapin injecté avec souche J 31 (méningite).

L'agglutination donne des résultats plus intéressants. Il est toutefois des races de bacilles qui agglutinent spontanément. Pour éviter cet inconvénient, il suffit presque toujours de repiquer, à plusieurs reprises, les souches étudiées. Les cultures sont ensuite émulsionnées dans l'eau physiologique, agitées durant plusieurs heures et stabilisées avec de la formoline à

0,4 p. 100. Dans ces conditions les réactifs obtenus sont presque toujours utilisables.

Cela ne veut pas dire que l'on dispose d'un moyen de diagnostic aussi sûr, aussi constant que la méthode de Widal ou de Ficker dans la fièvre typhoïde. Considérons par exemple le tableau I.

L'une des souches étudiées (J31) provient d'une méningite, l'autre (J64) d'un catarrhe banal du rhino-pharynx. Les lapins qui ont fourni les sérums 1 et 2 ont été immunisés avec le bacille J31; le troisième lapin a été traité avec la souche J95 (méningite) et le sérum n° 4, polyvalent, est vieux de plus de huit mois.

Les sérums 1 et 2 agglutinent très nettement la souche homologue, mais non le bacille J64. Le sérum 3 agglutine J31 jusqu'à 1:200, il ne donne pas de réaction avec J64.

Rivers et Kohn ont démontré que sur 13 couches isolées du

TABLEAU III.

Sérums	Sérum 5	Sérum 6	Sérum 7	Sérum 8
SOUCHES.	J95 J50 J52 J36 J18	J95 J50 J51 J52 J85 J99	J18 J39 J99 J50 J52 J95	J95 J85 J99 J50 J51 J52
Dilutions du sérum	1/100 1/200 1/400 1/800 1/1.600 Contrôle.	J95 J50 J51 J52 J85 J99 +++++ +++++ +++ +++ +++ +++	J18 J39 J99 J50 J52 J95 +++ +++ +++ +++ +++ +++	J95 J85 J99 J50 J51 J52 +++++ +++++ +++++ +++++ +++++ +++++

Sérums 5 et 6, polyvalents.
Sérum 7, souches J95, J85, J36 (méningites).
Sérum 8, souches J99 (rhino-pharynx).
J36, J85, J95, méningites.
J36, J51, J52, J18, J99, Bacilles de Pfeiffer provenant des voies respiratoires.

liquide céphalo-rachidien, 7 se sont trouvées identiques quant à leur agglutinabilité. Pour Kristensen (1) également, les divers bacilles de Pfeiffer, agents de méningite, sont beaucoup plus constants dans leurs caractères sérologiques que ceux trouvés dans les voies respiratoires.

Mettons en parallèle 4 souches de méningite (J31, J75, J81, J19) et 5 souches isolées de produits d'expectoration (tabl. II). Deux des premières seulement sont agglutinées par le sérum 1. Pour les bacilles d'autre origine les variations sont également importantes : J25 n'est pas agglutiné, J15, J20 agglutinent jusqu'à 1 : 200, J18 jusqu'à 1 : 500, et J39 jusqu'à 1 : 1.000.

En d'autres termes, le lapin fournit un sérum qui agglutine facilement la souche antigène jusqu'à une dilution de 1 : 2.000 et souvent plus. Mais ces immunsérums n'influencent pas toutes les souches de bacilles de Pfeiffer, bien au contraire, et si le lapin a été traité par un bacille provenant d'une méningite, son sérum n'agglutine pas les souches de méningite à l'exclusion des autres. En général, il agglutine nettement la souche homologue, moins nettement quelques autres cultures de bacilles de Pfeiffer (de méningite ou d'expectoration), tandis que certaines souches présentent une réaction absolument négative (tabl. III).

Pour obtenir des résultats plus satisfaisants, Lubinski (2) propose de faire une première lecture après six heures d'étuve à 60°, puis de laisser les étagères dix-huit heures à la température de la chambre. L'excipient utilisé est une solution de NaCl à 4 p. 1.000. Bieling (3) emploie une solution de NaCl 2 p. 100 et l'étuve à 37°. Ces méthodes ne nous ont pas donné de résultats finaux nettement différents de ceux obtenus avec une solution de NaCl 8 p. 1.000, en laissant les tubes durant vingt à vingt-quatre heures à la température du laboratoire (tabl. IV et V).

(1) KRISTENSEN. *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, 1925, p. 99.

(2) LUBINSKI. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, 1924, p. 298.

(3) BIELING et JOSEPH. *Zeitsch. f. Immun.*, 1920, p. 229.

TABLEAU IV. — Souche J31 (méningite).

Sérum	NaCl 8 p. 1.000. Température 37°									NaCl 4 p. 1.000. Température 37°									NaCl 2 p. 1.000. Température 37°								
	Dilution	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.000	1/2.000	Contrôle	Dilution	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.000	1/2.000	Contrôle	Dilution	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.000	1/2.000	Contrôle
1	B	+	+	+	+	+	+	±	—	B	+	+	+	+	+	±	±	—	B	+	+	+	+	+	±	±	—
2	A B	+	+	+	+	±	±	±	—	A B	+	+	+	+	±	±	±	—	A B	+	+	+	+	±	±	±	—
3	A B	+	+	+	±	±	±	—	—	A B	+	+	+	±	±	±	—	—	A B	+	+	+	±	±	±	—	—
4	A B	—	—	—	—	—	—	—	—	A B	±	±	±	—	—	—	—	—	A B	—	—	—	—	—	—	—	—
Sérum normal (lapin).	A B	—	—	—	—	—	—	—	—	A B	—	—	—	—	—	—	—	—	A B	—	—	—	—	—	—	—	—

Même légende qu'au tableau I. A, lecture après cinq heures d'étuve à 37°; B, deuxième lecture après dix-huit heures, température du laboratoire.

Même légende qu'au tableau I. A, lecture après cinq heures d'éleve à 37°; B, deuxième lecture après dix-huit heures, température du laboratoire.

TABLEAU V. — Souche J31 (méningite).

Sérum	NaCl 4 p. 1.000. Température 60° durant cinq heures										NaCl 4 p. 1.000. Température 37° durant cinq heures										NaCl 4 p. 1.000. Température du laboratoire.									
	Dilution	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.000	1/2.000	Contrôle	Dilution	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.000	1/2.000	Contrôle	Dilution	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.000	1/2.000	Contrôle			
2	A	+	+	+	+	+	+	+	—	A	+	+	+	+	+	+	+	—	A	+	+	+	+	+	+	+	—			
	B	+	+	+	+	+	+	+	—	B	+	+	+	+	+	+	+	—	B	+	+	+	+	+	+	+	—			
3	A	+	+	+	+	+	+	+	—	A	+	+	+	+	+	+	+	—	A	+	+	+	+	+	+	+	—			
	B	+	+	+	+	+	+	+	—	B	+	+	+	+	+	+	+	—	B	+	+	+	+	+	+	+	—			

A, lecture après cinq heures; B, deuxième lecture, après vingt-quatre heures.

A, lecture après cinq heures; B, deuxième lecture après vingt-quatre heures.

CONCLUSIONS.

Le bacille de Pfeiffer constitue un groupe microbiologique beaucoup moins homogène que le bacille d'Eberth. Les variations de ses caractères morphologiques et culturels, de ses réactions sérologiques et de sa virulence, l'ont fait comparer, à juste titre, au colibacille.

Il n'est pas possible actuellement d'établir une subdivision basée sur l'un de ces critères. La virulence, en particulier, varie d'une souche à l'autre, aussi bien pour les bacilles isolés des méningites, que pour ceux tirés de produits d'expectoration. Elle ne dépend ni de l'organe qui fournit le micro-organisme (méninges, voies respiratoires), ni de l'affection clinique qu'il provoque : isolé de l'arrière-gorge, le bacille peut être aussi virulent que s'il provient d'une méningite. Celle-ci d'ailleurs est souvent la conséquence d'un catarrhe banal du rhinopharynx.

Dans l'état présent de nos connaissances, il n'est pas possible de différencier le bacille de Pfeiffer, agent de la méningite cérébro-spinale, de celui qui provoque, à l'occasion, une inflammation des voies respiratoires.

LE VIRUS RABIQUE EN COCHINCHINE

Par J. BABLET.

(*Institut Pasteur de Saïgon.*)

Des communications récentes (1) ont appelé l'attention sur les variations de virulence des virus fixes utilisés par divers instituts antirabiques d'Europe et d'Afrique, et révélé des divergences notables dans la sensibilité de ces virus aux méthodes d'atténuation (dessiccation) et de conservation (glycérine). Il était intéressant d'étudier comment se comporte à cet égard le virus fixe de l'Institut Pasteur de Saïgon, apporté de Paris en 1890 par A. Calmette (1.518 passages au 1^{er} janvier 1925). Parallèlement, à titre documentaire et à titre de contrôle, il était indiqué de soumettre aux mêmes épreuves quelques échantillons de virus de rues provenant de chiens mordeurs ayant succombé à la rage.

I. — Virus fixe.

1° VIRULENCE DU VIRUS FIXE.

TECHNIQUE. — Les lapins qui servent à la préparation du vaccin antirabique pèsent de 1.500 à 2.000 grammes. Ils reçoivent en inoculation intradure-mérienne 0 c. c. 5 d'émul-

(1) HECKENROTH, Contribution à l'étude de la rage en A. O. F. *Ces Annales*, 1918, p. 387.

REMLINGER, Action de la dessiccation sur le virus rabique. *C. R. Soc. Biologie*, 1^{er} décembre 1923.

REMLINGER, Différence d'action de la glycérine à l'égard du virus des rues et du virus fixe. *C. R. Soc. Biologie*, 8 décembre 1923.

LEFÈVRE DE ARRIC, Activité comparée des virus fixes entretenus à Paris et à Bruxelles. *C. R. Soc. Biologie*, 11 avril 1924.

REMLINGER, Contribution à l'étude de la glycérine sur le virus rabique. *C. R. Soc. Biologie*, 10 janvier 1924.

REMLINGER, Sur quelques modifications susceptibles d'être apportées au traitement antirabique. *Bull. Académie de Médecine*, 5 février 1924, p. 199.

sion à 1/10 de bulbe de lapin du passage précédent, mort ou sacrifié après avoir présenté les symptômes classiques de la rage. Tout animal mort prématurément ou sans paralysie est éliminé.

RÉSULTATS. — Dans ces conditions, le virus fixe de Saïgon entraîne la paralysie de l'animal vers le sixième jour, sa mort du huitième au neuvième jour.

2° RÉSISTANCE DU VIRUS FIXE A LA DESSICCATION.

TECHNIQUE. — Les moelles de lapins, morts après inoculation intracrânienne de virus fixe dans les délais indiqués ci-dessus, sont partagées en deux moitiés, suspendues dans des flacons Pasteur à deux tubulures contenant 100 grammes de potasse et mises en glacière à une température moyenne de 10° (2 fragments de moelle par flacon). On coupe chaque jour 1/2 centimètre de moelle qu'on émulsionne dans 5 cent. cubes d'eau physiologique : 2 lapins de 1.500 à 2.000 grammes reçoivent chacun, sous la dure-mère, 0 c. c. 5 de cette émulsion.

RÉSULTATS :

Moelle desséchée de deux jours. . .	{	Les quatre lapins inoculés meurent du huitième au douzième jour après paralysie.
Moelle desséchée de trois jours. . .		
Moelle desséchée de quatre jours. .	{	Les quatre lapins inoculés meurent du huitième au vingtième jour après paralysie.
Moelle desséchée de cinq jours. . .	{	Trois lapins sur six meurent du huitième au dixième jour. Trois restent indemnes.
Moelle desséchée de six jours. . . .	{	Cinq lapins sur six meurent du huitième au onzième jour. Trois lapins sur huit meurent du vingtième au trentième jour.
Moelle desséchée de sept jours. . .	{	Deux lapins sur quatre meurent du huitième au dixième jour. Deux restent indemnes.

3° CONSERVATION DU VIRUS FIXE EN GLYCÉRINE.

TECHNIQUE. — On prélève chaque jour, dans des flacons à dessiccation, 1 centimètre de moelle de lapin ayant succombé à l'inoculation du virus fixe; chaque fragment est mis en glacière dans un pot-ban rempli à moitié de glycérine *neutre* à 30° B., stérilisée; dix jours après l'immersion, il est émulsionné dans 10 cent. cubes d'eau physiologique, et les inoculations d'épreuve sont faites comme nous l'avons déjà indiqué.

RÉSULTATS :

Moelle de deux et trois jours après dix jours de glycérine.	{	Quatre lapins meurent du huitième au dixième jour.
Moelle de quatre jours	{	Deux lapins meurent du quinzième au vingtième jour. Deux indemnes.
Moelle de cinq jours	{	Trois lapins meurent du quinzième au vingtième jour. Un indemne.
Moelle de six jours	{	Quatre lapins indemnes après cinquante jours.
Moelle de sept jours.	{	Un lapin mort le vingt-neuvième jour. Un indemne.

II. — Virus des rues.

Si nous répétons les mêmes expériences, dans les mêmes conditions, avec le virus des rues, nous obtenons les résultats suivants :

1° VIRUS FRAIS.

Période d'incubation précédant la paralysie	{	Treize-quatorze jours.
Evolution totale.		Dix-sept jours en moyenne.

2° VIRUS APRÈS DESSICCATION.

Moelle de deux à cinq jours.	{	Huit lapins meurent du quatorzième au trentième jour.
Moelle de six à sept jours.	{	Quatre lapins meurent du dix-sep- tième au trente-quatrième jour.

3° VIRUS APRÈS DESSICCATION ET IMMERSION DIX JOURS
EN GLYCÉRINE.

Moelle de deux à cinq jours.	{	Sept lapins meurent du quinzième au vingt-cinquième jour. Un indemne.
Moelle de six à sept jours	{	Quatre lapins meurent du quinzième au vingt-cinquième jour.

*
* *

Ces résultats autorisent les conclusions suivantes :

1° Le virus fixe de Saïgon, qui paralyse le lapin au sixième jour et le tue du huitième au neuvième jour, paraît avoir une virulence supérieure à celle des virus fixes de Paris, de Dakar, de Tanger ;

2° Ce virus résiste plus de quatre jours à la dessiccation. Au cinquième, au sixième et même au septième jour, il tue encore le lapin dans la moitié des cas ;

3° L'immersion en glycérine, pendant dix jours, des moelles desséchées laisse intacte la virulence des moelles de deux et trois jours, atténue celle des moelles de quatre et cinq jours, détruit la virulence des moelles de six et sept jours ;

4° Le « virus des rues » de Cochinchine, qui tue le lapin vers le dix-septième jour, ne présente pas de caractères anormaux. Il résiste plus de sept jours à la dessiccation et sa virulence dans les moelles desséchées persiste au delà de dix jours en glycérine ;

5° Les divergences constatées entre les virus fixes de Saïgon et ceux d'autres pays tropicaux ou subtropicaux (Tanger, Rabat, Dakar) montrent l'utilité de faire une étude prélimi-

naire de la virulence avant d'établir les formules de traitement;

6° La virulence des moelles desséchées ne disparaît pas brusquement, comme le fait a été observé à Tanger. L'atténuation se traduit d'abord par une prolongation de l'incubation et de l'évolution de la maladie, puis par la survie d'une partie des animaux inoculés. Tout se passe comme si le virus rabique diminuait quantitativement et d'une façon progressive, sous l'influence de la dessiccation.

Le Gérant : G. Masson.

